

Université de Montréal

# **Effets motivationnels des cannabinoïdes dans un modèle animal de la schizophrénie**

Par

Alexandra Gallo

Faculté de Médecine

Programme de Sciences Biomédicales

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Philosophiæ Doctor (Ph.D.)  
en sciences biomédicales option sciences psychiatrique

Juin, 2014

Copyright, Alexandra Gallo, 2014



Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :

**Effets motivationnels des cannabinoïdes dans un modèle animal de la  
schizophrénie**

présentée par :

Alexandra Gallo

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Valérie Mongrain, président-rapporteur

Dr Pierre-Paul Rompré, directeur de recherche

Dr Didier Jutras-Aswad, membre du jury

Dr Adriana Mendrek, examinateur externe

Dr Richard Boyer, représentant du doyen de la FES



# RÉSUMÉ

---

Depuis quelques décennies, la consommation de cannabis et son usage thérapeutique sont le sujet de nombreux débats. Le cannabis est la drogue illicite la plus consommée au monde et cette consommation se trouve dix fois plus élevée chez les patients atteints de schizophrénie que dans la population générale. L'hypothèse d'une automédication initialement proposée afin d'expliquer la consommation élevée de cannabis chez les patients atteints de schizophrénie est maintenant remise en question. En effet, les rapports indiquant une aggravation des symptômes plutôt qu'une amélioration suite à une consommation à long terme sont de plus en plus nombreux. Sachant que le cannabis peut induire des effets soit plaisants soit aversifs, la question se pose à savoir si une prédominance de la valence motivationnelle positive ou une diminution de la valence négative du cannabis peut expliquer la consommation élevée parmi les individus ayant un diagnostic de schizophrénie?

Bien qu'un grand nombre de recherches pré-cliniques aient été menées chez l'animal normal pour évaluer l'effet motivationnel du  $\Delta^9$ -tétrahydrocannabinol (THC) et autres cannabinoïdes synthétiques, aucune n'a abordé cette problématique dans un modèle animal de la schizophrénie. Cette lacune nous a donc amené à étudier la valence motivationnelle du THC et de l'agoniste cannabinoïde WIN55,212-2 (WIN) dans un modèle animal de la schizophrénie: la lésion néonatale de l'hippocampe ventral (NVHL). Dans le premier article, nous présentons les résultats de quatre expériences. Une première avait pour objectif de déterminer si la procédure expérimentale que nous avons utilisée permettait de reproduire des signes distinctifs du modèle animal de la schizophrénie. Par la suite, nous avons évalué i) l'effet d'une dose de WIN sur l'activité locomotrice spontanée et ii) la valence motivationnelle

du THC (0.5 mg/kg, i.p) et du WIN (1 mg/kg, i.p) chez les rats adolescents (jour post-natal 28-40, PD28-40) et adultes (PD56) au moyen du paradigme de préférence de place conditionnée (PPC). Tel qu'attendu, la réponse locomotrice à l'amphétamine (0.75 et 1.5 mg/kg) chez les rats NVHL adultes était supérieure à celle des rats contrôles (test distinctif du modèle). Le THC a induit une tendance aversive chez les rats contrôles adultes. Enfin, le WIN a stimulé l'activité locomotrice et induit une aversion significative chez les rats adultes NVHL. Dans un deuxième article, nous avons évalué la valence motivationnelle du THC (0.5 mg/kg), du WIN (1 et 3 mg/kg) et l'effet de l'amphétamine au moyen du paradigme d'autostimulation électrique intracérébrale (ASI). Les résultats montrent que : i) l'effet amplificateur de l'amphétamine sur l'ASI était de plus courte durée chez les rats NVHL; ii) le THC produit une légère atténuation de la récompense chez les rats contrôles tandis que le WIN a produit une atténuation plus prononcée de la récompense chez les rats NVHL, un effet qui a été bloqué par l'antagoniste aux récepteurs CB1, le AM251 (3 mg/kg).

Pour la première fois les résultats suggèrent une altération du système endocannabinoïde dans un modèle animal de la schizophrénie. Ils indiquent qu'une exposition aiguë conduit à une prédominance de la valence négative. Bien qu'en apparence contradiction avec les études cliniques, ces résultats soulignent l'importance du contexte socio-environnemental pour expliquer les effets du cannabis chez les patients. De plus ils encouragent les futures études à évaluer cette valence sur un modèle d'exposition chronique.

**Mots-clés :** lésion néonatale de l'hippocampe ventral,  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol, WIN55,212-2, AM251, récompense, locomotion, préférence de place conditionnée, autostimulation intracérébrale, schizophrénie.

# ABSTRACT

---

Over the past few decades, the cannabis consumption and its therapeutic use have been the subject of many debates. Cannabis is the most widely used illicit drug and among patients with a diagnosis of schizophrenia, its consumption is ten times higher than in the general population. The self-medication hypothesis that has been initially proposed to account for the co-morbidity schizophrenia – cannabis is now questioned on the basis of several reports showing that long term cannabis consumption worsen schizophrenia symptoms in patients. Knowing that cannabis can provoke both rewarding and aversive effects in human and in animal, the following question can be raised: can co-morbidity schizophrenia – cannabis be explained by a salient positive or a blunted negative motivational valence of cannabis?

Even though many pre-clinical studies have been carried out in normal animals on the motivational effects of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol (THC) or other synthetic cannabinoids, none has measured these effects in an animal model of schizophrenia. On the basis of this, we undertook a series of studies on the motivational valence of THC and the cannabinoid agonist WIN55,212-2 (WIN) in an animal model of schizophrenia : the neonatal ventral hippocampus lesion (NVHL).

In the first report, we present the results of four studies. The first was aimed at showing that the experimental procedures that we used reproduced some abnormal features of the animal model. Then we evaluated i) the effect of WIN (1 mg/kg) on spontaneous locomotor activity and ii) the motivational valence of THC (0.5 mg/kg) and WIN (1 mg/kg) in the young (post-natal day 28-40, PD28-40) and adult (PD56) rats with the conditioned place-preference paradigm (CPP). As expected, amphetamine produced a higher locomotor activity in NVHL

rats, an effect observed at PD56 and not at PD35 (NVHL usual test). THC tended to induce an aversion in control rats at PD56 while WIN produced a significant aversion at PD56 in NVHL rats only. We also assessed, in a second report, the valence of THC (0.5 mg/kg) and WIN (1 and 3 mg/kg), and amphetamine (0.75 mg/kg) using the brain stimulation reward paradigm. Results show that i) the enhancement effect of amphetamine on reward was shorter in adult NVHL rats; ii) THC induced a weak reward attenuation in control rats while WIN produced a marked dose-dependent attenuation in NVHL rats; this effect of WIN was blocked by AM251 (3 mg/kg), an antagonist at CB1 receptors.

For the first time, these results suggest that the endogenous cannabinoid system is altered in this animal model of schizophrenia. They indicate that an acute exposure leads to a predominance of negative valence. Even if this seems contradictory with clinical studies, these results highlight the interconnection between the drug and the socio-environment aspects. In addition, they encourage future studies to evaluate this valence on a chronic exposure paradigm with this animal model of schizophrenia.

**Keywords** : neonatal ventral hippocampus lesion,  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol, WIN55,212-2, AM251, reward, locomotion, conditioned place-preference, intracerebral self-stimulation, schizophrenia.



# TABLE DES MATIÈRES

---

RÉSUMÉ .....	v
ABSTRACT .....	vii
LISTE DES TABLEAUX .....	xii
LISTE DES FIGURES .....	xiii
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	xv
REMERCIEMENTS .....	xix
INTRODUCTION .....	1
1. LA SCHIZOPHRÉNIE .....	1
1.1 Définition et aspects historiques .....	1
1.2 Étiologie .....	4
1.3 Découverte des traitements à la base des hypothèses neurochimiques de la schizophrénie .....	7
1.4 Comorbidités avec les drogues d'abus : emphase sur le cannabis .....	22
2. LE SYSTÈME ENDOCANNABINOÏDE .....	26
2.1 Historique .....	26
2.2 Synthèse et métabolisme du système endocannabinoïde .....	29
2.3 Récepteurs et localisation .....	32
2.4 Affinités des agents cannabinoïdes .....	35
2.5 Impact des cannabinoïdes sur la neurotransmission liée à la récompense .....	37
3. ÉVIDENCES DES EFFETS DES CANNABINOÏDES .....	40
3.1 Études cliniques .....	40
3.2 Études animales : les effets motivationnels des cannabinoïdes .....	48
4. LE SYSTÈME DE RÉCOMPENSE DANS LES MODÈLES ANIMAUX DE LA SCHIZOPHRÉNIE .....	58
4.1 Les modèles animaux de la schizophrénie .....	61
4.2 Modèles animaux de la schizophrénie et système de récompense .....	79
4.3 Impacts des cannabinoïdes sur les modèles animaux de la schizophrénie .....	82
OBJECTIF DE L'ÉTUDE .....	84

MÉTHODOLOGIE ILLUSTRÉE .....	86
1. Modèle NVHL.....	86
1.1 Chirurgie néonatale .....	86
1.2 Histologie.....	89
2. Mesures comportementales.....	92
2.1 Activité locomotrice .....	92
2.2 Préférence de place conditionnée (PPC).....	95
3. Autostimulation intracérébrale (ASI) .....	98
3.1 Phase d'entraînement/stabilisation. ....	100
3.2 Phase de test .....	104
3.3 Pourquoi ce choix de conditionnement opérant ? .....	106
RÉSULTATS.....	107
1. Contribution des coauteurs .....	107
2. Article 1 .....	108
Abstract.....	110
Introduction.....	111
Materials and methods.....	113
Results.....	118
Discussion .....	123
References.....	130
Figures captions.....	137
3. Article 2 .....	147
Confirmation de soumission .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Abstract.....	149
Introduction.....	150
Methods .....	151
Results.....	156
Discussion .....	161
References.....	166
Figures legends.....	172

DISCUSSION GÉNÉRALE.....	182
1. Vue d'ensemble des résultats de cette étude.....	182
2. Le modèle NVHL .....	186
2.1 Modifications des paramètres .....	186
2.2 Distinction comportementale basale entre les rats shams et NVHL. ....	189
3. Les rats de phénotype « schizophrénique » ont un système eCB altéré. ....	194
3.1 Études avec l'agoniste CB1/CB2, le WIN55,212-2 .....	194
3.2 Études avec le THC .....	203
3.3 Un système eCB déjà altéré à l'adolescence ? .....	208
4. Effets aversifs du WIN, un phénomène dépendant des récepteurs CB1 ?.....	214
5. THC vs WIN : des effets comportementaux opposés .....	218
6. Implications pour les études cliniques et futures directions .....	224
7. Conclusion .....	228
RÉFÉRENCES .....	230

# LISTE DES TABLEAUX

---

## Introduction

Tableau I-1 : <i>Critères diagnostiques de la schizophrénie décrits dans le DSM-IV-TR et le DSM5</i> .....	3
Tableau I-2 : <i>Localisation des récepteurs CB1 et CB2 au niveau du SNC et du système périphérique</i> .....	35
Tableau I-3 : <i>Valeurs de la constante d'affinité (Ki) des différents cannabinoïdes aux récepteurs CB1/CB2</i> .....	37
Tableau I-4 : <i>Effets à court et long terme de la consommation de cannabis chez l'homme</i> .....	41
Tableau I-5 : <i>Comparaison d'une sélection de modèles de schizophrénie</i> .....	60
Tableau I-6 : <i>Analogie entre les anomalies observées dans le modèle NVHL et les symptômes de la schizophrénie</i> .....	77

## Discussion

Tableau IV-1 : <i>Vue d'ensemble des résultats</i> .....	185
--	-----

# LISTE DES FIGURES

---

## Introduction

Figure I-1 : Schéma des systèmes dopaminergiques (A), sérotoninergique (B) et glutamatergique (C). .....	11
Figure I-2 : Prévalence de la dépendance aux drogues d'abus. ....	23
Figure I-3 : Historique du cannabis et du système endocannabinoïde. ....	28
Figure I-4 : Voies de synthèse de l'AEA et du 2-AG. ....	31
Figure I-5 : Exemple du mécanisme d'action des endocannabinoïdes. ....	31
Figure I-6 : Mécanisme de dégradation des endocannabinoïdes. ....	32
Figure I-7 : Principales voies de signalisation intracellulaire des endocannabinoïdes. ....	33
Figure I-8 : Schéma illustrant la relation entre le système eCB et les voies reliant différentes régions du système limbique. ....	40
Figure I- 9: Évolution des niveaux d'endocannabinoïdes durant la progression de la schizophrénie. ....	47

## Méthodologie illustrée

Figure II-1: Description de la procédure chirurgicale NVHL. ....	90
Figure II-2 : Illustration des tranches de cerveau colorées au moyen de la technique de Nissl. ....	91
Figure II-3 : Test de l'activité locomotrice. ....	94
Figure II-4 : Test de préférence de place conditionnée (PPC). ....	97
Figure II- 5: Coordonnées stéréotaxiques d'implantation de l'électrode mobile dans le mésencéphale postéro-médian. ....	98
Figure II-6 : Cage d'autostimulation intracérébrale. ....	101
Figure II-7 : Exemples de déplacement de la courbe F/C. ....	104
Figure II-8 : Schéma de la procédure d'autostimulation intracérébrale. ....	105

## Résultats

### *Article 1*

Fig. 1.....	140
Fig. 2.....	140
Fig. 3.....	141
Fig. 4.....	142
Fig. 5.....	143
Fig. 6.....	144
Fig. 7.....	145
Fig.S1 .....	146

### *Article 2*

Figure 1.....	175
Figure 2.....	176
Figure 3.....	177
Figure 4.....	178
Figure 5.....	179
Figure 6.....	180
Figure 7.....	181

## Discussion

Figure IV-1: <i>Effet de l'ordre de traitement avec une injection de WIN (1 mg/kg, i.p) sur l'activité locomotrice chez des rats shams et NVHL à PD35.</i> .....	210
Figure IV-2: <i>Corrélation M50 vs ASY chez les rats NVHL traités avec le WIN seul (3 mg/kg, i.p, A) et le WIN coadministré avec l'AM251 (3 mg/kg, i.p, B).</i> .....	216
Figure IV-3 : <i>Structures moléculaires du THC et du WIN.</i> .....	219
Figure IV-4: <i>Schéma illustrant la relation entre le système eCB et les voies reliant différentes régions du système limbique après lésion NVHL.</i> .....	223

# LISTE DES ABRÉVIATIONS

---

2-AG	2-arachidonyleglycérol
5-HT	sérotonine
5-HT <sub>2a</sub> , 2b, 2c	récepteurs sérotoninergiques de type 2a, 2b, 2c
A9	voie dopaminergique mésostriée
A10	voies dopaminergiques mésocorticale et mésolimbique
AAIC	auto-administration intracérébrale
AAIV	auto-administration intraveineuse
AEA	anandamide
AMY	amygdale
APC	aversion de place conditionnée
ASI	autostimulation intracérébrale
ASY	asymptote
ATV	aire tegmentaire ventrale
B1 à B9	noyaux sérotoninergique
CB1 à CB3	récepteurs cannabinoïdes de type 1, 2, 3
CBD	cannabidiol
CIL	cortex infralimbique
COMT	catéchol-O-méthyltransférase
CPF	cortex préfrontal
CPu	noyaux caudé-putamen
D1 à D5	récepteurs dopaminergiques de type 1, 2...5
DA	dopamine

DSM	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>
eCB	endocannabinoïde
FAAH	<i>Fatty acid amide hydrolase</i>
F/C	courbe fréquence/comportement ( <i>rate/frequency curve</i> )
FMP	faisceau median proencéphalique
GABA	Acide $\gamma$ -aminobutyrique
Glu	glutamate
HT	hypothalamus
HPC	hippocampe
HPCv	hippocampe ventral
Ki	constante d'inhibition
LCR	liquide céphalo-rachidien
LSD	acide lysergique diéthylamide
M50	seuil de récompense définit comme la fréquence de stimulation requise pour induire un taux de réponse égale à 50% du taux de réponse maximal
MAM	agent methylazoxyméthanol acetate
MGL	<i>monoacylglycérol lipase</i>
mGluR1 à mGluR8	récepteurs metabotropiques glutamatergiques
NAc	noyau accumbens
NLST	noyau lit de la strie terminale
NVHL	« <i>Neonatal ventral hippocampus lesion</i> », lésion néonatale de l'hippocampe ventral



NP	« <i>Nose-Poke</i> », l'animal insère son museau dans une ouverture munie d'une cellule photo-électrique pour déclencher la stimulation électrique intracérébrale.
NPP	noyau pédunculo pontin
PCP	phencyclidine
PD	« <i>Post-natal day</i> », jour après la naissance
PPC	préférence de place conditionnée
PPI	« <i>prepulse inhibition</i> », inhibition par pré-pulse sonore du réflexe de sursaut
Poly I:C	Polyriboinosinic:polyribocytidilic acid
SN	substance noire
SNpc	substance noire pars compacta
SNr	substance noire reticulata
TDAH	trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité
TED	trouble envahissant du développement
THC	$\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol
TRPV	<i>Transient receptor potential vanilloid</i>
WIN	WIN55,212-2

*À mes parents Joëlle et Pierre Gallo*

*En l'honneur de la mémoire de tous mes petits rats*

# REMERCIEMENTS

---

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse le Dr Pierre-Paul Rompré qui m'a épaulé comme aucun autre directeur ne l'aurait fait. Il m'a ouvert sa porte suite à un mauvais départ de doctorat à Toronto, il a cru en mes compétences et les a mises à contribution, il m'a offert un environnement de travail sain, respectueux et amical, ce pourquoi il aura mon éternelle gratitude. Sa compétence, sa disponibilité, sa prévenance (toujours à avoir un petit carré de chocolat pour moi), son enthousiasme, sa patience, son soutien, son humanisme, son humour et la liste pourrait être encore très longue. Malgré les nombreuses difficultés auxquelles nous avons dû faire face, je n'aurais jamais pu trouver meilleur directeur et meilleur stage de doctorat. Pierre-Paul un grand merci à toi et à ton extraordinaire personne, j'espère pouvoir m'enorgueillir de notre amitié pour de nombreuses années à venir.

Où en serait ce projet sans l'incomparable soutien et aide de notre cher assistant de recherche, j'ai nommé Monsieur Claude Bouchard. Que dire Claude que tu ne saches déjà, tu as été là pour mes joies et mes peines, toujours un mot gentil ou un bon geste ou une boîte de chocolat pour me redonner le sourire. Tu as été un enseignant patient et dévoué, ton extrême compétence tout domaine confondu n'est plus à présenter et nous savons tous fort bien que lorsque tu n'es pas au labo on est tous vite perdu ! Aussi un immense merci à toi aussi d'avoir été tel un père pour moi durant toutes ces années.

De même serais-je là sans le soutien inconditionnel de mes parents Joëlle et Pierre Gallo et ma grande sœur Christelle. Je leur dédie cette thèse car je sais à quel point mes parents vont en recevoir une grande fierté. C'est un aboutissement pour moi mais aussi pour

eux. Cette thèse symbolisera ma reconnaissance pour leur soutien financier aux travers de ces nombreuses années d'études, mais plus encore la reconnaissance d'une enfant et d'une petite sœur pour la confiance et l'amour sans faille de sa famille, même si nous avons dû vivre sur des continents si éloignés pendant 6 ans. Un merci ne sera jamais suffisant pour rendre justice à tout ce que vous avez fait pour moi.

Soyons honnête celui à qui je dois une extrêmement grande gratitude est à l'homme de ma vie Monsieur Romain Videau. Mon chéri toi qui a supporté mon tempérament avec ses hauts et ses bas chaque jour depuis même la fin de mes études secondaires; qui m'a enduré au travers du stress de si nombreux examens; qui n'a jamais tari de bons conseils, d'amour ou de patience envers moi; qui m'a suivi à travers la France et au travers de l'Atlantique, un merci n'est pas non plus suffisant. Mais sache que ton amour a été et sera toujours ce qui me donne la force de poursuivre mon chemin. À tes côtés rien n'est impossible et tu m'apportes la plus belle expérience qui soit : une vie d'amour ensemble.

Parmi mes mentors j'aimerais remercier tout d'abord Mme Fauvel, professeur de biologie au Lycée de la Méditerranée, La Ciotat (France), qui a su me communiquer sa passion de la biologie. Le Dr Serge Ahmed et le Dr Stéphanie Caillé-Garnier qui ont pavé mes débuts en recherche. Le modèle de leur compétence et de leur conscience professionnelle fut un tremplin inestimable pour parfaire mes connaissances auprès de Pierre-Paul. À tout deux, un grand merci, j'ai pour vu une grande estime et une sincère amitié. Le Dr Sandra Boye, qui accepta le rôle de marraine de mon doctorat et auprès de qui j'ai trouvé une consœur aussi à cheval que moi sur l'organisation. Merci Sandra car sans toi il m'aurait été difficile de maîtriser si rapidement ce modèle animal.

Je ne pourrais malheureusement pas citer tous mes amis en France et au Québec qui ont suivi de près cette aventure à grand renfort d'encouragements, mais sachez que vous avez tous une place de choix dans mon cœur. Plus particulièrement, je tiens à remercier ma meilleure amie Syveline Lemaire alias Bichounette dont les conseils sages et éclairés, ainsi qu'une oreille attentive et une épaule virtuelle pour pleurer furent d'un soutien essentiel et constant pour boucler ce cycle de vie. Au Québec, le premier visage amical qui m'a été donné est celui du Dr Faïza Benaliouad. Son amitié et son enseignement, autant au niveau scientifique que des us et coutumes du Québec, furent mon premier rayon de soleil québécois que je n'oublierais jamais. La rencontre française qui a rendu Toronto tellement plus supportable et est devenue une grande amie j'ai nommé Dr Katia Deheuvels-Biotteau « la douce gourmande ». Les belles rencontrent françaises au Québec qui sont devenues des amies chères j'ai nommé Mlle Lise Albert « la militante », Mlle Élodie Lascar « l'ostéo de mon cœur » et le Dr Juliette Sablier « la passionnée », ma merveilleusement « weird » Trina Philips et mon « québécois de souche » Dr Nicolas Audet.

N'oublions pas les membres centraux sans qui ce projet n'existerait pas : mes chers petits rats. J'ai mis un point d'honneur à leur apporter tendresse et respect malgré les circonstances expérimentales. Ils ont été sacrifiés sur l'hôtel de la connaissance et je souhaite que cela ne soit pas en vain.

# INTRODUCTION

---

## 1. LA SCHIZOPHRÉNIE

### *1.1 Définition et aspects historiques*

La schizophrénie est une maladie mentale qui se caractérise par une perte de contact avec la réalité autant au niveau personnel, émotionnel que contextuel. Elle se déclare généralement au début de la vie adulte et touche presque 1% de la population mondiale avec une prédominance chez l'homme (Picchioni and Murray 2007). Probablement faute de distinction avec la psychose classique ou par la perte de preuves matérielles, il est difficile de trouver avant le 19<sup>e</sup> siècle des rapports de cas de troubles mentaux qui s'apparentent à la schizophrénie (Evans, McGrath et al. 2003). Les premiers rapports de cas présents dans les annales de psychiatrie sont attribués à John Haslam et Philippe Pinel en 1809 (Heinrichs 2003).

Le terme schizophrénie a été introduit dans le langage scientifique en 1911 par le psychiatre suisse Eugen Bleuler; il vient du grec « *schizein* », signifiant fractionnement, et « *phrèn* », signifiant esprit. Bleuler a ainsi mis à jour la dénomination de « démence précoce » avancée par son confrère allemand Emil Kraepelin. Bleuler a mis l'accent sur la notion de dissociation des fonctions psychiques plutôt que sur le caractère précoce de la maladie, rendant ainsi mieux compte de la description clinique fondamentale de ce trouble mental (Fusar-Poli and Politi 2008). Cependant la mauvaise interprétation de la définition d'« esprit divisé », autant par le clinicien que le profane, a mené à une confusion entre la schizophrénie et les troubles dissociatifs de la personnalité. Cette confusion s'est dissipée en

1980 lors de la publication de la 3<sup>ème</sup> version du « *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder* », (DSM-III) par l'Association de Psychiatrie Américaine (Wilson 1993); elle demeure toutefois entretenue par les médias et le 7<sup>ème</sup> art.

La schizophrénie s'exprime globalement par une série de symptômes qui sont regroupés en trois classes : positifs, négatifs et cognitifs. On parle de *symptômes positifs* pour qualifier ceux qui s'ajoutent à la perception considérée normale dans la population générale, comme par exemple : les hallucinations, les délires et le langage incohérent. Par opposition, les *symptômes négatifs* font état d'une diminution des capacités émotionnelles normales, comme par exemple : l'isolement social, l'apathie et l'anhédonie. Enfin les *symptômes cognitifs* sont généralement liés à des problèmes touchant les capacités d'attention, d'organisation, de décision, de mémoire et d'anticipation. Ces symptômes, selon leur ampleur, peuvent handicaper sérieusement les patients; ils se retrouvent donc incapables de mener une vie active normale. Jusqu'à tout récemment, les critères utilisés pour le diagnostic de la maladie étaient ceux décrits dans le DSM-IV-TR. Ces critères ont fait l'objet d'une révision au cours des dernières années et une cinquième version du DSM (DSM-5) est parue en mai 2013. Les différences majeures entre les deux versions sont : le passage de un à deux critères minimums parmi ceux spécifiés et l'abandon des sous-types de la schizophrénie (paranoïde, désorganisé, catatonique, indifférencié, et résiduel) (ref. <http://www.dsm5.org/Pages/Default.aspx>, menu déroulant « What's new, Schizophrenia »).

Une comparaison des critères du diagnostic de la schizophrénie du DSM-IV-TR et du DSM-5 est présentée au **Tableau I-1** (ref. DSM-IV-TR et DSM-5).

CRITÈRES	CRITÈRES DSM-IV-TR	CRITÈRES DSM-5
<b>A. Caractéristiques principales</b>	<b>2 symptômes</b> ou plus présents pendant plus d'un mois : 1) délires, 2) hallucinations, 3) discours incohérent, 4) comportement désorganisé ou catatonique, 5) symptômes négatifs (émoussement affectif, alogie, avolution). <b>Seulement 1 symptôme</b> si délires bizarres.	<b>2 symptômes</b> ou plus présents pendant plus d'un mois : 1) délires, 2) hallucinations, 3) discours incohérent, 4) comportement désorganisé ou catatonique, 5) symptômes négatifs (émoussement affectif, alogie, avolution). <b>Au moins l'un des 2 doit être 1) 2) ou 3).</b>
<b>B. Dysfonctions sociales et professionnelles</b>	Pendant une période de temps significative, diminution notoire du niveau de fonctionnement dans une ou plusieurs activités.	IDEM
<b>C. Durée</b>	Signes du trouble perdurent plus de 6 mois dont un mois de symptômes du Critère A avec phase prodromique ou de symptômes résiduels.	IDEM
<b>D. Exclusion des désordres affectifs et schizoaffectifs</b>	Exclus soit par 1) absence épisode dépressif ou maniaque pendant phase active symptômes, soit 2) présence de ces épisodes durant la durée de la phase active et résiduelle de la maladie.	IDEM
<b>E. Exclusion conditions médicales et usage substances</b>	Le trouble n'est pas attribuable à la consommation d'une substance ou à une autre condition médicale.	IDEM
<b>F. Relation avec Trouble Envahissant du Développement (TED)</b>	S'il y a un diagnostic d'autisme ou de TED durant enfance, diagnostic additionnel de schizophrénie seulement si délires et hallucinations importantes.	IDEM
<b>Sous-types</b>	<b>1) paranoïde, 2) désorganisé, 3) catatonique, 4) indifférencié, 5) résiduel</b>	<b>Suppression des sous-types</b>

**Tableau I-1 :** Critères diagnostiques de la schizophrénie décrits dans le DSM-IV-TR et le DSM5



## **1.2 Étiologie**

Bien que la définition et les critères diagnostiques de la schizophrénie soient de plus en plus précis, les causes quant à elles demeurent toujours obscures. Plusieurs observations ont été faites chez les patients atteints de schizophrénie amenant à penser à une origine multifactorielle de la maladie. Des études épidémiologiques montrent que l'immigration, la vie en milieu urbain, et la consommation de drogues d'abus tel que les psychostimulants et le cannabis augmentent le risque de développer la maladie. On note par exemple que le rapport des chances (« Odds ratio », OR) du facteur urbanisme est près de 2 (Krabbendam and van Os 2005). Dans le cas des personnes immigrantes en minorité ethnique vivant dans une zone donnée, le OR varie de 2 à 5 (Veling, Susser et al. 2008). Le lien avec la consommation de drogue d'abus sera plus amplement discuté dans la **section 1.4**. Au niveau développemental, il semble y avoir une relation importante entre la schizophrénie et une atteinte du développement cérébral d'un enfant durant la grossesse ou lors de l'accouchement, telles qu'une infection virale au deuxième trimestre de gestation, la consommation de drogues d'abus, la malnutrition et l'hypoxie à la naissance (Cannon, Jones et al. 2002, Brown 2006). L'aspect génétique compte également pour une part importante des causes éventuelles de la schizophrénie. Des études d'association ont révélé que le taux de concordance chez les jumeaux homozygotes est près de 50%; en d'autres mots si l'un des jumeaux développe la maladie, le second a près de 50% de chance de la développer. Le taux de concordance chute à 17% chez les jumeaux hétérozygotes et à 6% pour les apparentés (Tsuang 2000). On évalue à 80% la contribution de l'hérédité à la schizophrénie (Sullivan, Kendler et al. 2003). Notons qu'il est important de rappeler que l'hérédité est une donnée statistique qui évalue la part génétique et environnementale pour un phénotype donné dans une population donnée. En d'autres termes,

80% de la variance interindividuelle des patients atteints de schizophrénie est expliquée par la variation des gènes et de l'environnement. Par opposition, l'hérédité se définit comme la transmission des caractéristiques génétiques d'une génération à l'autre pour un individu donné. Ainsi l'héritabilité ne peut être considérée dans le cadre individuel car c'est une donnée de population, tandis que l'hérédité est une donnée individuelle.

Parmi les gènes largement étudiés on peut citer la mutation par translocation du gène « Disruptive in Schizophrenia 1 » (DISC1) du chromosome 1 au 11. Ce gène code pour une protéine d'échafaudage largement exprimée dans le cerveau pendant le développement embryonnaire. Elle interagit avec plusieurs autres types de protéines importantes pour le développement cellulaire tel que la prolifération et la différenciation des cellules nerveuses; elle joue également un rôle dans la régulation de certaines fonctions dont les fonctions dopaminergiques centrales (Hennah, Thomson et al. 2006, Lipina, Niwa et al. 2010). Cette mutation, originellement découverte au sein d'une large famille écossaise, est largement considérée comme ayant une forte relation de causalité avec les maladies mentales telles que la schizophrénie. Une autre mutation souvent retrouvée chez les patients atteints de schizophrénie est le polymorphisme Val<sup>158</sup>Met du gène de la Catéchol-O-Methyl Transférase (COMT). Ce polymorphisme consiste en une substitution de l'acide aminé valine (Val) par une méthionine (Met) à la position 158 du gène de la COMT. L'enzyme COMT est impliquée dans la dégradation des neurotransmetteurs de type catécholamine soit l'adrénaline, la noradrénaline et la dopamine (DA). Ainsi, les individus homozygotes pour l'allèle Val présente une enzyme COMT hyperactive par rapport aux individus homozygote pour l'allèle Met, ce qui provoque une diminution de la neurotransmission catécholaminergique particulièrement au niveau du cortex; ceci pourrait expliquer, du moins en partie, certains

déficits cognitifs observés chez les patients (Tunbridge, Harrison et al. 2006). Un autre gène largement étudiée est celui de la Neuregulin 1 (NRG-1). Ce gène localisé sur le chromosome 8p13 code pour une protéine appartenant à la famille des facteurs de croissance qui est impliqué dans les processus de développement et de plasticité notamment au niveau cérébral. Parmi ses rôles on peut citer par exemple la migration neuronale, le développement des cellules gliales, la formation des synapses, la myélination des axones et la régulation des voies glutamatergiques et GABAergiques (Harrison and Law 2006). De multiples polymorphismes ont été identifiés au sein de population de patients atteints de schizophrénie; ils sont majoritairement localisés dans la région 5' du gène NRG-1 (Mei and Xiong 2008). Un lien a été établi entre l'haplotype « core at-risk » et la diminution de l'activité des aires frontales et temporales ainsi que la propension à développer des symptômes psychotiques chez ces patients (Hall, Whalley et al. 2006). Le rôle neurodéveloppemental de ce gène en fait une cible de choix pour la compréhension du développement neuronal anormal qui caractérise la schizophrénie.

Enfin, l'observation de la structure et des fonctions cérébrales, chez les patients atteints de schizophrénie a mis en évidence plusieurs anomalies telles : un élargissement des ventricules cérébraux suite à une réduction globale de matières grise et blanche; une diminution de l'activité de structures cérébrales impliquées dans les émotions et la cognition telles que le cortex préfrontal (CPF), l'amygdale (AMY), l'hippocampe (HPC) (Davis, Kahn et al. 1991, Ahmed, Buckley et al. 2013).

Aux vues des causes probables de la schizophrénie énumérées ici, l'hypothèse d'une origine multifactorielle de cette maladie ne peut être écartée. L'élaboration de traitements pour

soulager des patients, dont l'apparition et l'expression de la maladie peuvent différer largement d'un individu à l'autre, la rendent d'autant plus complexe.

### ***1.3 Découverte des traitements à la base des hypothèses neurochimiques de la schizophrénie.***

#### **1.3.1 Bases neurobiologiques**

Afin de mieux comprendre le(s) mécanisme(s) d'action des traitements pharmacologiques de la schizophrénie, il apparaît pertinent d'expliquer brièvement la nature anatomique et fonctionnelle des systèmes de neurotransmission à l'origine des hypothèses de la schizophrénie. L'accent sera mis sur les structures cérébrales majoritairement touchées par cette maladie. Un schéma de ces différentes aires cérébrales et des systèmes de neurotransmission est présenté à la **Figure I-1**.

La dopamine (DA) est un neurotransmetteur appartenant au groupe des monoamines (DA, sérotonine, noradrénaline et adrénaline) et à la famille des catécholamines (DA, noradrénaline et adrénaline). Bien que communément associée au neurotransmetteur du « plaisir », la DA a bien d'autres rôles dans le système nerveux central (SNC), notamment au niveau cognitif et moteur. Les neurones dopaminergiques sont regroupés et forment des noyaux qui sont identifiés de A8 à A17. Ne seront mentionnés ici que les noyaux reliés à ce que l'on nomme les voies dopaminergiques issues du mésencéphale et de l'hypothalamus (**Figure I-1A**). Elles sont au nombre de 4 : 1) *la voie mésostriée* (A9) qui prend son origine au sein de la substance noire pars compacta (SNpc) et qui projette sur le striatum dorsal; 2) *la voie mésolimbique* (A10) issue de l'aire tegmentale ventrale (ATV) et qui projette principalement sur le striatum ventral, à l'AMY, à l'HPC, au septum, aux noyaux habénulaires

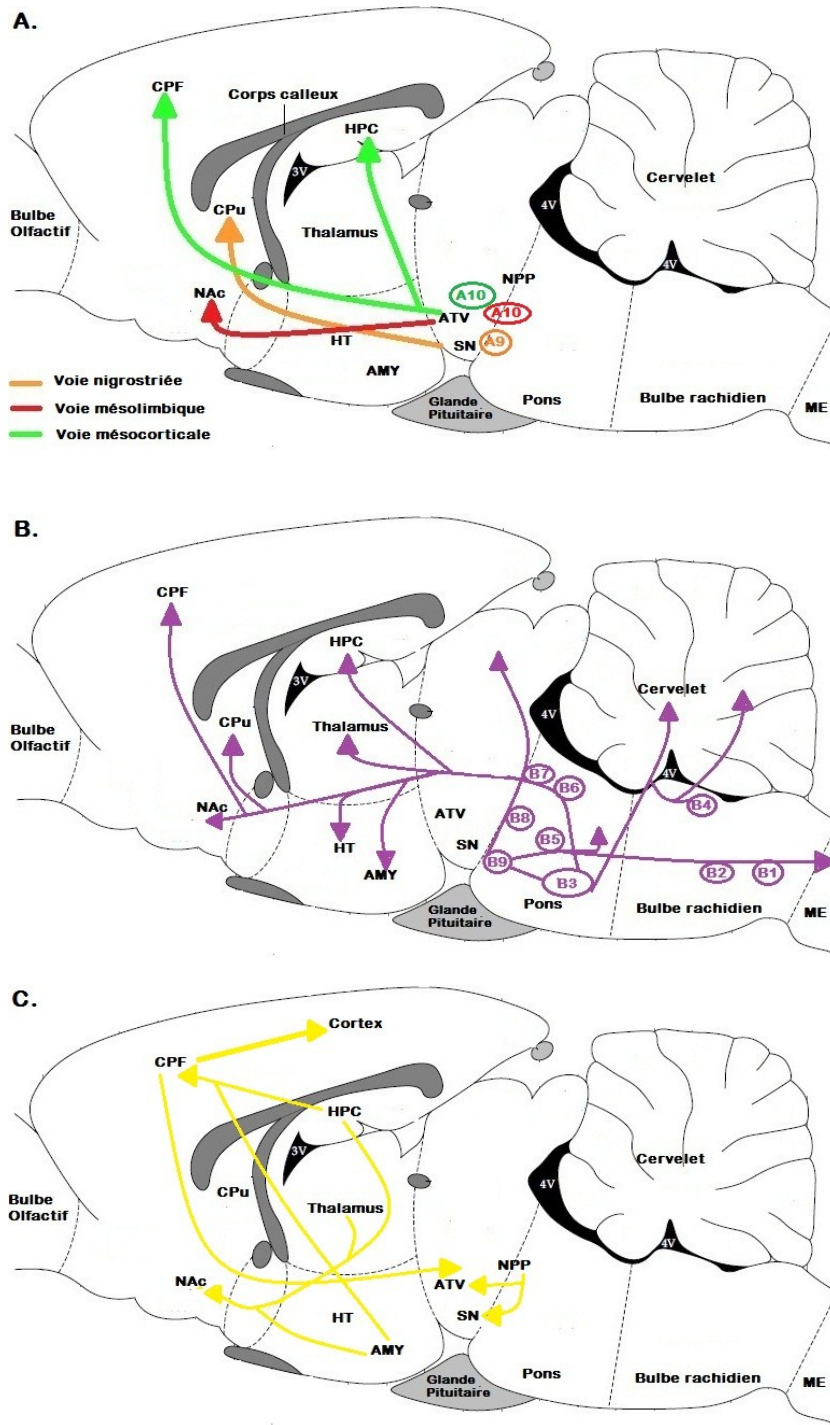
et aux tubercules olfactifs; 3) *la voie mésocorticale* (A10) issue de l'ATV et qui projette principalement sur le CPF, cortex cingulaire et cortex entorhinal; 4) *la voie tubéro-infundibulaire* (A12) issue du noyau arqué de l'hypothalamus et qui projette sur l'éminence médiane. Les voies A9, surtout la partie la plus médiane, et A10 jouent un rôle important dans la régulation des fonctions motivationnelles, émotionnelles et cognitives, des fonctions qui sont altérées chez les patients atteints de schizophrénie (Ahmed, Buckley et al. 2013). L'ensemble des structures qu'elles réunissent forment ce que l'on appelle le circuit de la récompense. La DA exerce également un contrôle sur la sécrétion de prolactine par la voie tubéro-infundibulaire. La DA libérée dans l'espace extracellulaire interagit avec deux grandes familles de récepteurs dopaminergiques métabotropiques, c'est-à-dire, couplés à une protéine G. Les deux familles de récepteurs sont « D1 » comprenant les récepteurs D1 et D5, et « D2 » comprenant les récepteurs D2, D3 et D4. Les récepteurs D2 sont pré- et post-synaptiques. Au niveau pré-synaptique, on les retrouve sur le soma et les dendrites des neurones dopaminergiques ainsi que sur les terminaisons nerveuses. Leur activation limite l'activité nerveuse et réduit la synthèse et la libération synaptique de DA. Les autres récepteurs à DA sont tous des récepteurs post-synaptiques.

La sérotonine (ou 5-hydroxytryptamine, 5-HT) est également un neurotransmetteur appartenant au groupe des monoamines. Les neurones sérotoninergiques forment des noyaux localisés exclusivement dans le tronc cérébral (myélencéphale, métencéphale et mésencéphale) et identifiés de B1 à B9 (**Figure I-1B**). Les neurones sérotoninergiques issues du raphé dorsal (B6-B7) et du raphé médian (B8) projettent sur un grand nombre de régions qui sont aussi innervées par les neurones dopaminergiques tel que le striatum ventral et dorsal, l'AMY, l'HPC, et le CPF. Le système sérotoninergique est complexe puisque la sérotonine

libérée dans l'espace extracellulaire peut interagir avec près d'une quinzaine de récepteurs qui sont tous, à l'exception de un (5-HT<sub>3</sub>), des récepteurs métabotropes. On dénombre actuellement 7 sous-types de récepteurs sérotoninergiques : 5HT-1 à 5-HT-7. Les récepteurs 5-HT<sub>1a</sub> et 5-HT<sub>2a</sub> sont particulièrement importants puisqu'ils interagissent avec plusieurs médicaments utilisés pour traiter la schizophrénie. Le récepteur 5-HT<sub>1a</sub> est un récepteur pré- et post-synaptique. Il est localisé sur le soma et les dendrites des neurones sérotoninergiques et son activation réduit l'activité nerveuse des neurones. Tout comme la DA, la sérotonine joue un rôle important dans les fonctions motivationnelles, émotionnelles et cognitives; elle est particulièrement impliquée dans la régulation de l'humeur, l'agressivité et l'impulsivité. Elle joue également un rôle important dans le cycle d'éveil-sommeil et la régulation de certaines fonctions physiologiques tels que la thermorégulation, l'appétit et la sécrétion hormonale.

Le glutamate (ou acide glutamique, Glu) est le neurotransmetteur excitateur le plus abondant dans le SNC. Étant donné ce caractère ubiquitaire, il est difficile de décrire distinctement toutes les voies glutamatergiques tel qu'on peut le faire pour les voies monoaminergiques. Mais certaines voies semblent importantes pour la régulation des fonctions altérées en schizophrénie (**Figure I-1C**). La voie glutamatergique issue des neurones efférents du CPF et projetant sur le striatum (ventral et dorsal), l'ATV et le raphé dorsal joue un rôle important dans la régulation des fonctions monoaminergiques sous-corticales et par voie de conséquence, les émotions et la motivation. C'est aussi le cas de celle issue de l'HPC qui joue un rôle important dans la modulation des neurones efférents du striatum ventral. Enfin, les neurones glutamatergiques issues des noyaux pédonculopontin et latérodorsal projettent sur l'ATV et modulent l'activité des voies dopaminergiques mésolimbique et mésostriée. Le glutamate peut également interagir avec un grand nombre de récepteurs qui

sont des récepteurs ionotropiques et métabotropiques. On retrouve trois sous-types de récepteurs ionotropiques, les récepteurs NMDA, AMPA et KA. Leur nom vient de l'agoniste qui les active soit l'acide N-méthyl-D-aspartate (NMDA), l'acide  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionique (AMPA) et l'acide kaïnique (KA). Les récepteurs métabotropiques sont regroupés en trois classes ou sous-types, type I (mGluR1 et mGluR5), type II (mGluR2 et mGluR3) et type III (mGluR4, mGluR6, mGluR7 et mGluR8). Le glutamate joue un rôle essentiel dans la plasticité neuronale c'est-à-dire le renforcement de la réponse synaptique (« synaptic strength »), la formation d'épines dendritiques et de nouvelles synapses; ces phénomènes sous-tendent des fonctions telles que la mémoire et l'apprentissage. En modulant l'activité des voies monoaminergiques, le glutamate joue un rôle crucial dans la régulation de l'humeur, de la motivation et la cognition.



**Figure I-1 :** Schéma des systèmes dopaminergiques (A), sérotoninergique (B) et glutamatergique (C).

A9 et A10 indiquent la SN et l'ATV respectivement. B1-B9 indiquent les noyaux sérotoninergiques.  
 Abréviations : 3V : 3<sup>e</sup> ventricule, 4V : 4<sup>e</sup> ventricule, AMY : amygdale, ATV : aire tegmentale ventrale, CPF : cortex préfrontal, CPu : noyau caudé-putamen, HPC : hippocampe, HT : hypothalamus, NPP : noyau pédunculo-pontin, SN : substance noire.



### **1.3.2 De l'antihistaminique au premier antipsychotique : naissance de l'hypothèse dopaminergiques de la schizophrénie**

Les traitements utilisés chez les patients souffrant de maladies mentales ont grandement évolué, allant de l'exorcisme à l'emprisonnement avec contention du Moyen-Âge jusqu'au 19<sup>e</sup> siècle, à la lobotomie et les électrochocs au début du 20<sup>e</sup> siècle. Il fallut attendre 1952 pour l'avènement des premiers traitements pharmacologiques efficaces : les antipsychotiques (ou neuroleptiques, littéralement « qui suspend le nerf »). On doit la découverte du premier médicament antipsychotique, la chlorpromazine (commercialisée sous le nom de Largactil®), à Henri Laborit, chirurgien et neurobiologiste français (Laborit, Huguenard et al. 1952). Laborit administrait cet agent antihistaminique aux patients juste avant la chirurgie. Or, il observa des effets de désintéressement, de myorelaxation et de sédation; il proposa donc son utilisation en psychiatrie. C'est ainsi que la même année les psychiatres français Delay et Denicker publièrent le résultat des tests cliniques réalisés avec cette molécule qui selon eux accomplit des merveilles sur leurs patients psychotiques en asile (Delay, J. et Denicker, P. 1952, « Le traitement de psychoses par une méthode neurolytique dérivée de l'hibernothérapie; le 4560 RP utilisé seul en cure prolongée et continue ». *CR Congr Méd Alién Neurol (France)*, 50:497–502). Les travaux d'Arvid Carlsson sur la caractérisation de la DA comme neurotransmetteur dans le cerveau ont pavé la voie à une meilleure compréhension du mécanisme d'action des médicaments antipsychotiques. Carlsson et Lindqvist (Carlsson and Lindqvist 1963) ont aussi démontré que la chlorpromazine et l'halopéridol augmentaient le niveau des métabolites de la DA (molécules issues de la dégradation enzymatique de la DA) dans le cerveau. Ceci a donné naissance à la première

hypothèse neurochimique de la schizophrénie : l'hypothèse dopaminergiques (pour revue, (Howes and Kapur 2009)).

Au fil des ans, plusieurs résultats de recherche fondamentale et clinique sont venus appuyer cette hypothèse. On a découvert par exemple que la L-DOPA, un précurseur de la synthèse de la DA, exacerbait les symptômes psychotiques (Yaryura-Tobias, Diamond et al. 1970) et que l'amphétamine, de par sa capacité à augmenter la neurotransmission dopaminergiques, induisait des symptômes psychotiques chez des patients n'ayant pas un diagnostic de schizophrénie (pour revue, (Lieberman, Kane et al. 1987)). Enfin on a découvert que les médicaments antipsychotiques étaient de puissants bloqueurs des récepteurs dopaminergiques et que la dose requise pour induire un effet antipsychotique était corrélée avec leur affinité pour les récepteurs dopaminergiques de type D2 (Seeman, Lee et al. 1976). Il est devenu rapidement évident que les médicaments antipsychotiques non seulement réduisaient les symptômes de la maladie mais produisaient certains effets moteurs non-désirés. Ceux-ci s'avéraient similaires à ceux que l'on observait chez les patients atteints d'une maladie neurologique, la maladie de Parkinson. Or, il était connu que la maladie de Parkinson est causée par une perte de DA résultant d'une dégénérescence des neurones dopaminergiques innervant le striatum. L'induction de symptômes de type parkinsonien venait donc renforcer l'hypothèse que les médicaments antipsychotiques produisaient leur effet clinique en réduisant la neurotransmission dopaminergique et que la schizophrénie était due à une hyperdopaminergie striatale. En fait, on croyait à une certaine époque que pour induire un effet antipsychotique il fallait administrer des doses de médicaments qui induisaient également des symptômes parkinsoniens (aussi nommés extrapyramidaux). La synthèse et l'approbation clinique d'un nouveau médicament, la clozapine (Clozaril®), est venue remettre en question

cette croyance. En effet, ce nouveau médicament s'avérait être un médicament antipsychotique très efficace malgré le fait qu'il n'induisait peu ou pas de symptômes moteurs extrapyramidaux (Hippius 1999); il avait un profil atypique. Toutefois, son extraordinaire potentiel fût vite stoppé suite à l'occurrence d'une agranulocytose chez certains patients, un effet indésirable pouvant être fatal. Ce médicament fut réintroduit en clinique dans les années 80 et utilisé principalement chez les patients réfractaires à toute autre médicament selon un protocole impliquant un suivi étroit de l'état des cellules sanguines.

Il fallut attendre les années 90 pour que l'hypothèse dopaminergique de la schizophrénie prenne un nouveau tournant : celui de la régionalisation d'un dysfonctionnement dopaminergiques. Davis et al. (Davis, Kahn et al. 1991) ont proposé que les symptômes négatifs de la schizophrénie sont dus à une hypodopaminergie corticale tandis que les symptômes positifs sont causés par une hyperdopaminergie sous-corticale. L'hypothèse d'une hypodopaminergie corticale fût appuyée par des études d'imagerie rapportant une diminution du flux sanguin cérébral au sein du CPF (Davis, Kahn et al. 1991). Et quelques années plus tard, l'équipe de Laruelle (Laruelle, Abi-Dargham et al. 1996) a montré que l'amphétamine induisait une plus grande augmentation extracellulaire de DA au sein du striatum des patients atteints de schizophrénie que chez des sujets contrôles.

L'avènement des études d'imagerie a également apporté un nouveau regard quant au lien entre l'efficacité clinique des médicaments antipsychotiques et leur action sur la neurotransmission dopaminergiques sous-corticale. Il a été montré qu'un effet antipsychotique est induit lorsque le taux d'occupation des récepteurs D2 dans le striatum est de 50-70%; ce taux critique d'occupation est dépendant du type de médicaments, les typiques produisant un taux plus élevé (plus de 70%) que les atypiques (plus près de 50%) (Kapur, Remington et al.

1996). Mais lorsque le taux d'occupation des récepteurs D2 excède 80%, ce qui peut se produire avec les antipsychotiques typiques, il y a un risque élevé d'apparition de symptômes extrapyramidaux.

Le développement de médicaments antipsychotiques dits atypiques modelés sur les propriétés pharmacologiques de la clozapine a apporté des perspectives nouvelles à l'hypothèse dopaminergiques. En effet, l'affinité de la plupart de ces médicaments pour les récepteurs à la sérotonine de type 2a (5-HT<sub>2a</sub>) est supérieure à leur affinité pour les récepteurs D2. L'équipe de Meltzer (Meltzer, Matsubara et al. 1989) a ainsi suggéré que le profil atypique d'un médicament pouvait être expliqué par la ratio d'occupation des récepteurs 5-HT<sub>2a</sub>/D2, les atypiques ayant un ratio supérieur à 1.0. Cette nouvelle hypothèse ne remet pas en question le lien entre l'activité anti-dopaminergique du médicament et l'effet antipsychotique. En fait, on peut dire qu'à ce jour il n'existe aucun médicament antipsychotique efficace qui ne présente pas d'affinité pour les récepteurs D2.

À la lumière des données récentes sur les propriétés pharmacologiques des médicaments typiques et atypiques et leurs interactions avec les récepteurs D2, l'équipe de Kapur (Kapur, Zipursky et al. 1999) a proposé « l'hypothèse dopaminergiques de la schizophrénie, version 3 » (Howes and Kapur 2009). Ils définissent celle-ci en quatre points qui sont les suivants : 1) plusieurs dysfonctions mènent à une dérégulation du système dopaminergique, qui serait une conséquence et non l'origine de la maladie; 2) cette dérégulation est de nature pré- et post-synaptique; 3) la dérégulation du système dopaminergique semble plus liée à l'état de psychose en général que celui propre à la schizophrénie; et 4) la dérégulation du système dopaminergique semble liée à une

amplification du caractère saillant des stimuli résultant en une association aberrante et une surestimation de leur pertinence (concept de « salience »).

### **1.3.3 Du LSD aux antipsychotiques de deuxième génération : naissance de l'hypothèse sérotoninergique de la schizophrénie**

Bien que l'attention portée au système sérotoninergique dans le cadre de la schizophrénie soit relativement récente, la découverte de son implication éventuelle remonte aux années 50. Ainsi, l'hypothèse sérotoninergique de la schizophrénie a suivi une évolution parallèle aux découvertes qui ont conduit à l'hypothèse dopaminergique de la schizophrénie, du moins jusqu'en 1963. Comme nous l'avons mentionné, à cette époque Carlsson et al. (Carlsson and Lindqvist 1963) découvrent que les antipsychotiques augmentent les métabolites de la DA, et Rossum et al. (van Rossum 1966) proposent l'hypothèse dopaminergique qui est discuté à la **section 1.3.2**. Cette hypothèse va jeter de l'ombre sur l'hypothèse sérotoninergique, une ombre qui va se dissiper dans les années 90 avec la découverte du profil plus sérotoninergique que dopaminergique des antipsychotiques atypiques.

Revenons donc dans les années 50 où les prémisses de l'hypothèse sérotoninergique de la schizophrénie trouvent leurs origines. C'est à Albert Hofmann, chimiste suisse, que l'on doit la découverte, l'isolation et la synthèse du composé hallucinogène de l'ergot de seigle : l'acide lysergique diéthylamide (LSD). Hofman expérimenta sur lui-même et fit une description des effets qu'il ressentait; ses effets se sont avérés similaires à certains symptômes de la schizophrénie (cf. Livre « LSD, my problem child » par Dr Albert Hofmann, *Oxford University Press*, Réédition Avril 2013, ISBN 978-0199639410). Les premiers à suggérer

l'hypothèse d'une anomalie sérotoninergique de la schizophrénie furent Wooley et Shaw (Woolley and Shaw 1954) et Gaddum et Hameed (Gaddum and Hameed 1954). Suite aux observations des effets psycho-mimétiques du LSD, Woolley et Shaw suggérèrent que la sérotonine est à l'origine des symptômes de la schizophrénie. Gaddum et Hameed émirent l'hypothèse que le LSD agit comme un antagoniste des récepteurs sérotoninergiques. Cette hypothèse basée sur les effets du LSD présentait certains problèmes. En effet, le LSD est un agoniste partiel et non un antagoniste des récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>2</sub> (Backstrom, Chang et al. 1999). De plus, ces effets se caractérisent majoritairement par des hallucinations visuelles et non auditives. Or il est largement rapporté que les patients atteints de schizophrénie ont plus souvent des hallucinations auditives que visuelles, même si les hallucinations visuelles sont plus importantes lors du déclenchement de la schizophrénie (Freedman and Chapman 1973).

La découverte de la clozapine et des autres médicaments antipsychotiques dits atypiques ainsi que leur profil pharmacologique a ravivé l'hypothèse sérotoninergique. De nombreuses études ont rapportées des anomalies du système sérotoninergique parmi les patients atteints de schizophrénie (pour revue, (Geyer and Vollenweider 2008)). Les effets psycho-mimétiques des hallucinogènes tels que le LSD sont dus à l'activation des récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> (Vollenweider, Vollenweider-Scherpenhuyzen et al. 1998) puisqu'ils sont bloqués par des antagonistes aux récepteurs 5-HT<sub>2A</sub>. Enfin, il est fort probable que la composante antagoniste des récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> contribue, avec la composante antagoniste des récepteurs D<sub>2</sub>, aux effets des antipsychotiques atypiques (Meltzer 1999).

Bien que l'emphasis ait été mise sur le récepteurs 5-HT<sub>2A</sub>, le profil pharmacologique très divers des nouveaux antipsychotiques atypiques, a stimulé la recherche sur le rôle des autres récepteurs sérotoninergiques dans l'action antipsychotique des médicaments. Selon Ichikawa et Meltzer (Ichikawa and Meltzer 1999), l'activation des récepteurs 5-HT<sub>1a</sub> et le blocage des récepteurs D<sub>2</sub> résultent en une augmentation du niveau extracellulaire de DA dans le CPF, renversant ainsi l'hypodopaminergie corticale. D'autres ont rapporté des effets similaires dans l'HPC et le striatum ventral (Sakaue, Somboonthum et al. 2000). Dans leur revue, Geyer et Vollenweider (Geyer and Vollenweider 2008) proposent que les phases précoces de la schizophrénie serait à dominante sérotoninergique, ce qui entraînerait ultimement une dérégulation plus globale des systèmes de neurotransmission, menant à des phénomènes compensatoires des systèmes dopaminergiques et glutamatergiques. Ces observations démontrent le lien fonctionnel étroit qui existe entre les différents systèmes de neurotransmission, un lien qui est en accord avec les données anatomiques décrites précédemment.

#### **1.3.4 De la kétamine aux antipsychotiques agonistes des récepteurs NMDA : naissance de l'hypothèse glutamatergique de la schizophrénie**

L'hypothèse glutamatergique de la schizophrénie a été proposée à la fin des années 80, suite à l'observation que les antagonistes des récepteurs glutamatergiques NMDA tels que la kétamine et la phéncyclidine (PCP) reproduisaient certains symptômes de la schizophrénie chez des sujets sains, et exacerbaient les symptômes des patients atteints de schizophrénie (Javitt 1987). Les antagonistes des récepteurs NMDA ont la particularité d'induire des déficits cognitifs et des symptômes négatifs qui s'apparentent à ceux observés chez des patients

atteints de schizophrénie, un profil différent de celui des psychostimulants (Krystal, Perry et al. 2005). Selon cette hypothèse, les patients atteints de schizophrénie présenteraient une hypofonctionnalité du système glutamatergique. Plusieurs résultats cliniques et pré-cliniques sont venus appuyer cette hypothèse : 1) les niveaux de D-sérine, un agoniste du site allostérique pour la glycine (co-activateur) du récepteur NMDA, sont diminués dans le plasma des patients atteints de schizophrénie (Hashimoto, Fukushima et al. 2003); 2) Une étude post-mortem rapporte une diminution de la phosphorylation de la sous-unité NR1 du récepteur NMDA dans le CPF de patients atteints de schizophrénie (Emamian, Karayiorgou et al. 2004) : 3) Des mesures faites sur le liquide céphalo-rachidien (LCR) de patients atteints de schizophrénie et sur des tissus cérébraux ont révélées une augmentation significative des niveaux d'acide kynurénique, un antagoniste endogène du site allostérique glycine du récepteurs NMDA (Erhardt, Blennow et al. 2001); des résultats similaires ont été obtenus pour le CPF (Schwarcz, Rassoulpour et al. 2001). Un niveau élevé d'acide kynurénique est susceptible de réduire la neurotransmission glutamatergique. Selon ces auteurs l'augmentation des niveaux d'acide kynurénique ne serait pas causée par les traitements aux antipsychotiques. Ces diverses observations ont ouvert un nouveau champ de recherche sur le traitement de la schizophrénie mettant l'accent sur le système glutamatergique. Il a été démontré chez l'animal que : 1) le traitement avec les agonistes du site glycine des récepteurs NMDA pouvait renverser les symptômes induit par la PCP (Javitt, Balla et al. 2004, Linn, O'Keeffe et al. 2007); 2) la co-administration d'un agoniste complet du site glycine/NMDA avec un antipsychotique typique ou atypique produit une amélioration significative des symptômes négatifs, positifs et cognitifs (pour revue, (Javitt 2006)).



Malgré toutes ces évidences, l'hypothèse glutamatergique ne peut à elle seule expliquer la complexité de la schizophrénie; elle n'exclue pas non plus l'hypothèse dopaminergique. Carlsson et al. (Carlsson, Waters et al. 2001) ont proposé un modèle théorique qui intègre les deux hypothèses. Ce modèle inclus un déficit de la neurotransmission glutamatergique, un déficit de la transmission dopaminergique au niveau cortical et une dérégulation de la transmission dopaminergique au niveau striatal. Ce modèle suggère que le déficit de la neurotransmission glutamatergique provoque un dérèglement des systèmes dopaminergiques cortical et sous-cortical. Ainsi le CPF ne pourrait plus jouer son rôle de modulateur sur ces systèmes. Donc la dérégulation du système dopaminergique serait une conséquence secondaire au dérèglement du système glutamatergique. Plusieurs études cliniques semblent appuyer ce modèle (pour revue, (Laruelle, Kegeles et al. 2003)).

Dû au fait que les antipsychotiques atypiques tel que la clozapine interagissent avec un grand nombre de récepteurs, le rôle d'autres systèmes de neurotransmission tel que le GABA, la noradrénaline et l'acétylcholine a également été étudié. On rapporte : une hypofonctionnalité GABAergique (pour revue, (Coyle 2004)), une augmentation des niveaux plasmatique et céphalo-rachidien de noradrénaline (pour revue, (Yamamoto and Hornykiewicz 2004)) et une hypo ou hyperfonction cholinergique suivant le stade de la maladie (pour revue, (Money, Scarr et al. 2010)).

### **1.3.5 Efficacité des traitements pharmacologiques et thérapies alternatives**

Nous avons vu dans les paragraphes précédents un aperçu des différentes étapes ayant menées à la découverte des médicaments antipsychotiques et à une meilleure compréhension

de leurs mécanismes d'action. Ceux-ci ciblent plusieurs systèmes de neurotransmission et il est fort possible que leur action clinique résulte de leur action sur un certains nombres de ces systèmes. Cependant, les médicaments développés jusqu'à ce jour offrent une thérapie de contrôle sur les symptômes de la schizophrénie, mais ils ne conduisent pas à la guérison. Il est plutôt rare que le premier médicament prescrit aux patients est celui qui leur convient le mieux. De plus, malgré la grande diversité des médicaments disponibles, près de 30-40% des patients sont résistants ou partiellement résistants aux traitements pharmacologiques (Lewander 1992, Stip 2000). L'étude CATIE (« The Clinical Antipsychotic Trial of Intervention Effectiveness ») subventionnée par le NIMH (« National Institute of Mental Health ») a montré que 74 % des patients ont arrêté leurs traitements au cours des 18 mois, mettant en évidence le problème d'efficacité de traitement à long terme des patients (Lieberman, Stroup et al. 2005). Les résultats de cette étude ont également révélé que les traitements avec des antipsychotiques typiques et atypiques ont une efficacité clinique similaire (pas de différence significative). L'arrêt prématuré du traitement est le plus souvent dû à : l'absence d'efficacité, les effets secondaires et le refus du patient à continuer le traitement. La schizophrénie étant une maladie chronique, le patient est contraint de prendre un traitement à vie afin de réduire la réapparition des symptômes. Ainsi un arrêt prématuré du traitement conduit le plus souvent à une recrudescence des symptômes qui nécessite la majeure partie du temps une hospitalisation.

Considérant le faible taux d'adhérence aux traitements et par extension le fort taux de rechute, il semble évident que le traitement pharmacologique ne vise qu'à réduire les symptômes de la maladie. Or, traiter les symptômes est une chose, mais redonner une autonomie et une vie à la fois fonctionnelle et satisfaisante en est une autre. Le stigma que

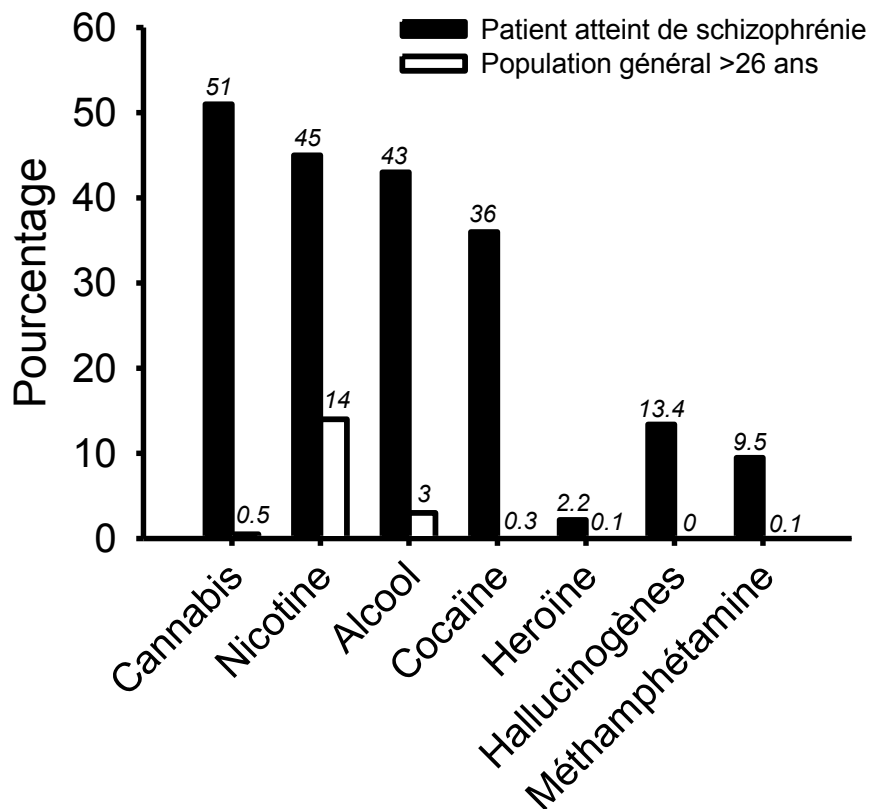
cette maladie présente au sein de notre société, voire au sein même de la famille du patient, est un lourd fardeau à porter seul. Un soutien moral et émotionnel semble donc indissociable des traitements pharmacologiques. Aussi, d'autres thérapies non médicamenteuses telles que les thérapies cognitives et psycho-sociales sont de plus en plus utilisées conjointement avec les traitements pharmacologiques. Le NIMH rapporte que les patients sous traitements médicamenteux stables, ont moins de chance d'arrêter leur traitement et donc moins de chances d'être ré-hospitalisés s'ils reçoivent un accompagnement psychosocial. Les thérapies non-pharmacologiques visent à la fois le patient, afin qu'il soit plus en mesure de gérer sa propre maladie, mais aussi l'entourage du patient qui sera mieux à même d'apporter un support adéquat et essentiel au patient (voir site : [http://www.nimh.nih.gov/health/topics/schizophrenia/index.shtml?utm\\_source=publish2&utm\\_medium=referral&utm\\_campaign=www.kpbs.org](http://www.nimh.nih.gov/health/topics/schizophrenia/index.shtml?utm_source=publish2&utm_medium=referral&utm_campaign=www.kpbs.org)) (pour revue, (Mueser, Deavers et al. 2013)).

#### ***1.4 Comorbidités avec les drogues d'abus : emphase sur le cannabis***

La schizophrénie présentant de nombreux symptômes communs à d'autres maladies (anxiété, dysphorie, déficits cognitifs...), il n'est pas rare que les patients souffrant de schizophrénie présentent un double-diagnostic : on parle alors de comorbidité. Nous nous intéresserons ici plus particulièrement à la dépendance aux drogues d'abus. Au cours de leur vie, plus de la moitié des patients atteints de schizophrénie consomment des drogues d'abus ou en deviennent dépendants. Cinq fois plus de patients atteints de schizophrénie que d'individus dans la population générale auront un diagnostic de comorbidité ou de dépendance à une ou

plusieurs drogues d'abus (Gregg, Barrowclough et al. 2007). Le type de drogues consommées varie grandement d'un patient à l'autre (**Figure I-2**).

## Prévalence de dépendance aux drogues d'abus



**Figure I-2 :** Prévalence de la dépendance aux drogues d'abus.

Ce graphique indique le pourcentage de personnes dépendantes pour chaque substance. Les *barres noires* indiquent les taux parmi les patients atteints de schizophrénie, les *barres blanches* ceux dans la population générale âgée de plus de 26 ans. Dans le cas du cannabis, la faible proportion de dépendance dans la population générale provient du fait qu'ici ne sont présentées que les données de personnes de plus de 26 ans. Hors la prédominance de cette dépendance se retrouve généralement chez les 18-25 ans, avec un taux de 4%. Concernant l'alcool, les données compilées indiquent une dépendance chez les patients atteints de schizophrénie qui peut aller jusqu'à 65%. Les données de ce graphique, rassemblée entre 2000 et 2010, sont issues de l'article de P.H. Addy and al., 2012, *Comorbid Alcohol, Cannabis, and Cocaine Use Disorders in Schizophrenia: Epidemiology, Consequences, Mechanisms, and Treatments*. Focus, Mars 2012; **10**:140-153 en accès disponible sur le site de l'American Psychiatry Association : <http://focus.psychiatryonline.org/article.aspx?articleid=1201004>).

Les causes pouvant expliquer la comorbidité entre les troubles d'abus de substances et la schizophrénie sont nombreuses. Quatre hypothèses retiennent l'attention. Tout d'abord l'hypothèse de *l'auto-médication*, la plus souvent mentionnée dans la littérature, suggère que les patients consomment des drogues d'abus afin de réduire certains symptômes tels que la dysphorie et certains effets secondaires désagréables causés par la médication. La deuxième hypothèse est celle de *la sur-sensibilité* à certaines substances. Un postulat sous-jacent à cette hypothèse est que la schizophrénie résulte de l'interaction entre une vulnérabilité biologique et psychologique issues d'anomalies génétiques ou épigénétiques et des événements stressants. Or, cette interaction serait propice au développement d'un trouble d'abus de substances. La troisième hypothèse propose *une origine commune* de nature génétique, neuropathologique, environnementale et cognitive aux deux troubles. Enfin, la quatrième hypothèse suppose l'existence *d'une relation bidirectionnelle* entre le trouble d'abus de drogues et la schizophrénie, l'un aggravant l'autre et vice-versa. Bien que l'ensemble de ces hypothèses soient soutenues par de nombreuses évidences dans la littérature, il semblerait qu'une seule hypothèse ne puisse rendre compte de la complexité de cette comorbidité (pour revue, (Gregg, Barrowclough et al. 2007)). Puisque le projet de recherche présenté dans cette thèse visait à étudier les aspects neurobiologiques qui sous-tendent la consommation de cannabis chez les patients atteints de schizophrénie, nous mettrons l'emphasis dans les lignes qui suivent sur cette comorbidité.

À l'instar de l'amphétamine, de la cocaïne et de l'alcool, la consommation de cannabis chez des sujets sains reproduits certains symptômes positifs et négatifs de la schizophrénie (D'Souza, Perry et al. 2004). Même si à court terme le cannabis est utilisé pour atténuer certains effets secondaires désagréables liés à la médication, l'abus chronique conduira

globalement à exacerber les symptômes (D'Souza, Abi-Saab et al. 2005). Par ailleurs, le cannabis est la seule parmi les drogues d'abus à avoir un impact sur l'incidence de la schizophrénie (Gregg, Barrowclough et al. 2007, Muller-Vahl and Emrich 2008). En effet, plusieurs études longitudinales ont démontré que l'usage du cannabis au cours de l'adolescence augmentait la probabilité d'avoir un diagnostic de schizophrénie à l'âge adulte (Andreasson, Allebeck et al. 1987, Arseneault, Cannon et al. 2002, Henquet, Murray et al. 2005). Les symptômes de la schizophrénie sont détectés parmi les consommateurs de cannabis en moyenne 2,7 années plus tôt que chez les non-consommateurs (Large, Sharma et al. 2011). De plus, l'abus d'autres substances, telles que l'amphétamine et la cocaïne, simultanément avec le cannabis, semble avoir un effet accélérant, puisque qu'elle réduit encore plus l'âge de d'apparition des premiers symptômes de la schizophrénie (Power, Dragovic et al. 2013). Les principaux agents actifs, ou agents psychotropes, présents dans le cannabis sont le  $\Delta^9$ -tétrahydrocannabinol (THC) et le cannabidiol (CBD). Or des données récentes indiquent que le CBD a un effet protecteur et opposé à celui du THC. Les individus qui consomment du cannabis qui contient peu ou pas de CBD sont plus susceptibles de développer des symptômes psychotiques que ceux qui consomment du cannabis contenant une plus grande concentration de CBD (Morgan and Curran 2008, Di Forti, Morgan et al. 2009). Des études neurochimiques ont révélé que le CBD induit une activation cellulaire du système limbique qui est très similaire à celle induite par des médicaments antipsychotiques atypiques. À l'instar de la clozapine, par exemple, le CBD augmente l'expression du gène précoce, c-fos (marqueur d'activité neuronale), dans les neurones du noyau accumbens (NAc) mais pas ceux du striatum dorsal; cet effet neurochimique contraste avec celui de l'halopéridol (antipsychotique typique) qui induit c-fos dans les neurones de ces deux structures (Guimaraes, Zuardi et al. 2004).

Néanmoins, il est important de mentionner que ce ne sont pas tous les individus exposés au cannabis qui développent une psychose ou une schizophrénie; ceux qui la développent sont ceux qui ont une prédisposition ou une vulnérabilité à développer cette maladie. La compréhension de cette vulnérabilité pourrait permettre de mieux comprendre l'impact qu'a le cannabis sur ces individus. Les évidences cliniques et pré-cliniques appuyant le lien entre le système endocannabinoïde (eCB) et la schizophrénie vous seront détaillées dans la **section 3**. Le système eCB ainsi que son fonctionnement sont présentés à la section suivante.

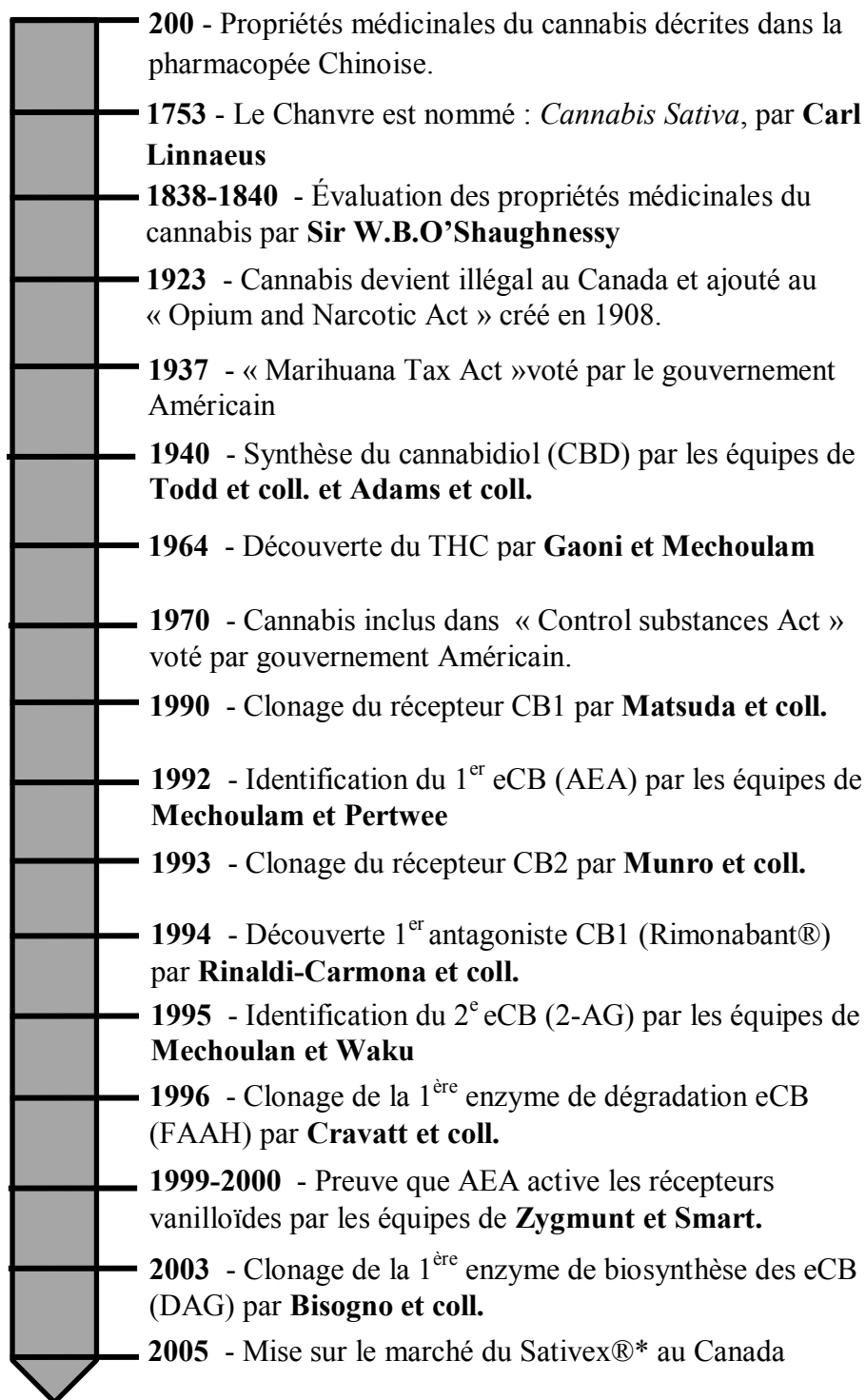
## **2. LE SYSTÈME ENDOCANNABINOÏDE**

### ***2.1 Historique***

Le chanvre, plante originaire d'Asie, fût l'une des premières plantes domestiquée par l'homme. Plusieurs espèces sont répertoriées à ce jour, mais plus communément on se réfère aux espèces *Cannabis Sativa* ou *Indica*. On retrouve des traces d'utilisation aussi loin que l'âge Néolithique. Initialement cultivé pour la qualité de résistance de ses fibres permettant la confection de vêtements et autres matériaux, les propriétés psychotropes du cannabis furent vite identifiées. Il fallut attendre la moitié du 19<sup>e</sup> siècle pour que ces effets euphorisants et hallucinogènes soient officiellement rapportés. À titre anecdotique, nous pouvons mentionner Jacques-Joseph Moreau et son « Club des Hashishins » à Paris qui réunissait les célébrités intellectuelles de l'époque, notamment Victor Hugo, Charles Beaudelaire, Alexandre Dumas, Théophile Gautier, Honoré de Balzac, et bien d'autres. Durant leur réunion, ils consommaient une sorte de confiture de hashish appelée *dawamesk* et faisaient rapport de leur sensations dans les journaux de l'époque (« *Du hachisch et de l'aliénation mentale* », Moreau J.-J. 1845, Bibliothèque Nationale de France livre disponible au format pdf :

<http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k768978>). Le début du 20<sup>e</sup> siècle fût marqué par de nombreuses interdictions gouvernementales successives à travers le monde pour son usage médicinal ou récréatif. Ce n'est que dans les années 90 que de nombreuses recherches apportèrent des éléments d'explication au mécanisme d'action du cannabis sur le système nerveux. Bien que toujours largement prohibé à travers le monde, certains pays d'Europe, le Canada et quelques états américains deviennent plus flexibles sur la consommation du cannabis, notamment la consommation de cannabis à des fins médicales. La **Figure I-3** retrace les grandes lignes de l'histoire du cannabis autant au niveau des découvertes scientifiques qu'au niveau de la législation.





**Figure I-3 :** Historique du cannabis et du système endocannabinoïde.

Adaptée de (Di Marzo 2006), ("Psychopharmacology, drugs, the brain and behavior", Meyer J.S. and Quenzer L.F., Sinauer Associates Inc Editor, 2005), et du site internet : <http://www.evolutionquebec.com/site/cannabi/histcana.html>).

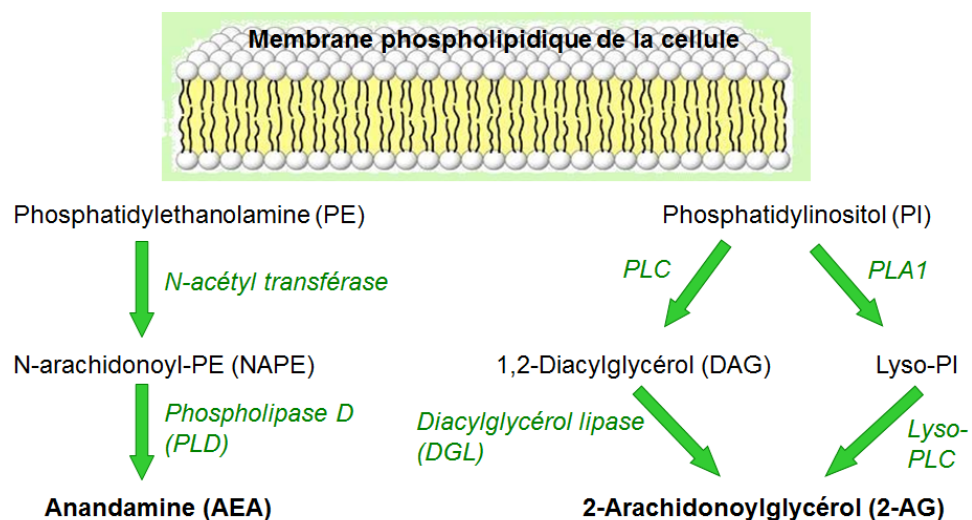
\* Vaporisateur oral composé d'un ratio THC/CBD 1:1

## 2.2 Synthèse et métabolisme du système endocannabinoïde

Le système eCB est un système de neurotransmission qui a été largement conservé au cours de l'évolution autant chez les invertébrés que les vertébrés (Salzet, Breton et al. 2000). Le terme eCB désigne les molécules synthétisées de manière endogène chez l'homme et l'animal qui interagissent avec ce système de neurotransmission. Le fait qu'elles soient dérivées d'acides gras a rendu tardive leur mise en évidence (voir **Figure I-3**). On dénombre actuellement cinq eCB : 1) *arachidonoyléthanolamide* (AEA) ou anandamide, 2) le 2-*arachidonoyl glycérol* (2-AG), 3) le 2-*arachidonoyl glycérol éther* (2-AGE) ou noladin, 4) l'*O-arachinoyl-ethanolamine* (virodhamine) et 5) le N-*arachidonoyl-dopamine* (NADA) (Di Marzo 2009).

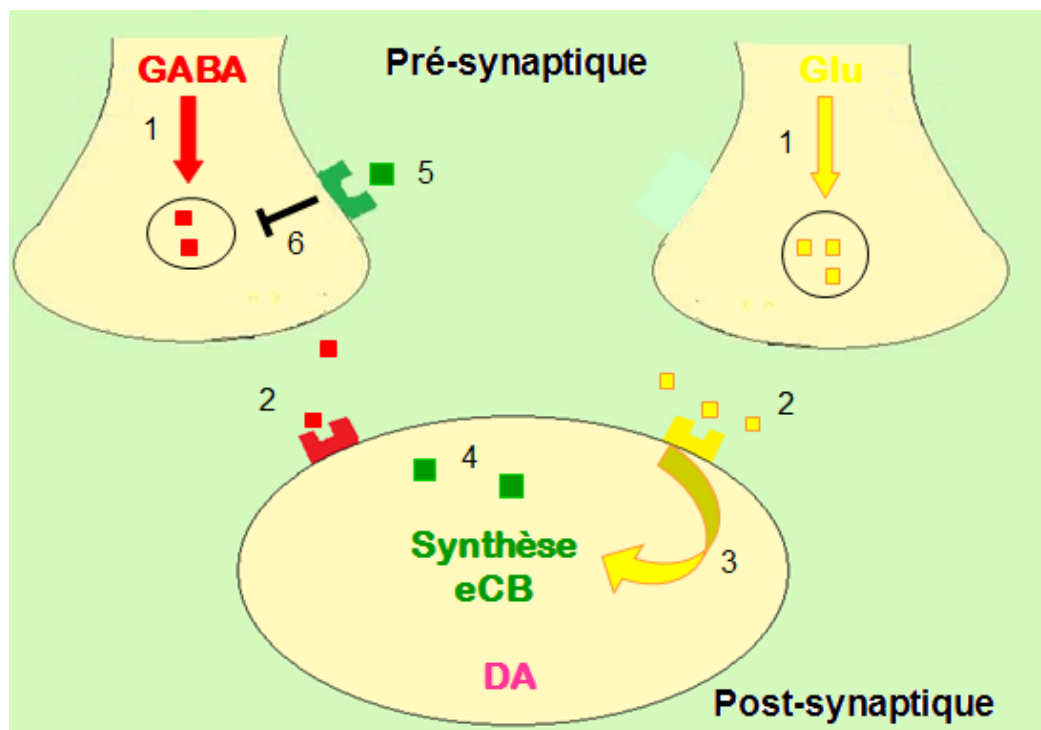
La synthèse des eCB se fait à partir des membranes lipidiques des cellules et l'action de diverses enzymes qui provoquent le clivage des longues chaînes d'acides gras. Seuls les mécanismes de synthèse de l'AEA et du 2-AG sont connus à ce jour (**Figure I-4**) (Piomelli 2003). Contrairement aux autres systèmes de neurotransmission qui présentent un système de synthèse et de stockage du neurotransmetteur, le système eCB a la particularité d'avoir un mode de synthèse « à la demande ». Ainsi, suite à une dépolarisation neuronale, les eCB, qui ne sont pas stockés dans des vésicules synaptiques, vont être synthétisés à partir de la membrane lipidique et directement libérés par le neurone. Une fois libérés, ils vont agir comme messagers rétrogrades en diffusant au travers de la membrane lipidique pour aller se fixer sur des récepteurs spécifiques aux cannabinoïdes présents le plus souvent au niveau pré-synaptique (Murray and Bevins 2010) (**Figure I-5**). Suite à leur libération, la désactivation des eCB va se faire selon différents modes. Les eCB peuvent être récupérés par la synapse selon

deux modes : par diffusion passive facilitée grâce à leur propriété lipophile, ou par recapture au moyen d'un transporteur membranaire (EMT). Le 2-AG va préférentiellement être récupéré par la terminaison pré-synaptique tandis que l'AEA sera récupérée par la terminaison post-synaptique. L'hydrolyse des eCB est catalysée par deux enzymes de dégradation : la mono-acylglycérol lipase (MGL) qui va dégrader le 2-AG en glycérol et acide arachidonique, et l'anandamide amido-hydrolase (FAAH « fatty acid amido hydrolase ») qui va transformer l'AEA en éthanolamine et acide arachidonique (**Figure I-6**) (Piomelli 2003) (Giuffrida, Beltramo et al. 2001).



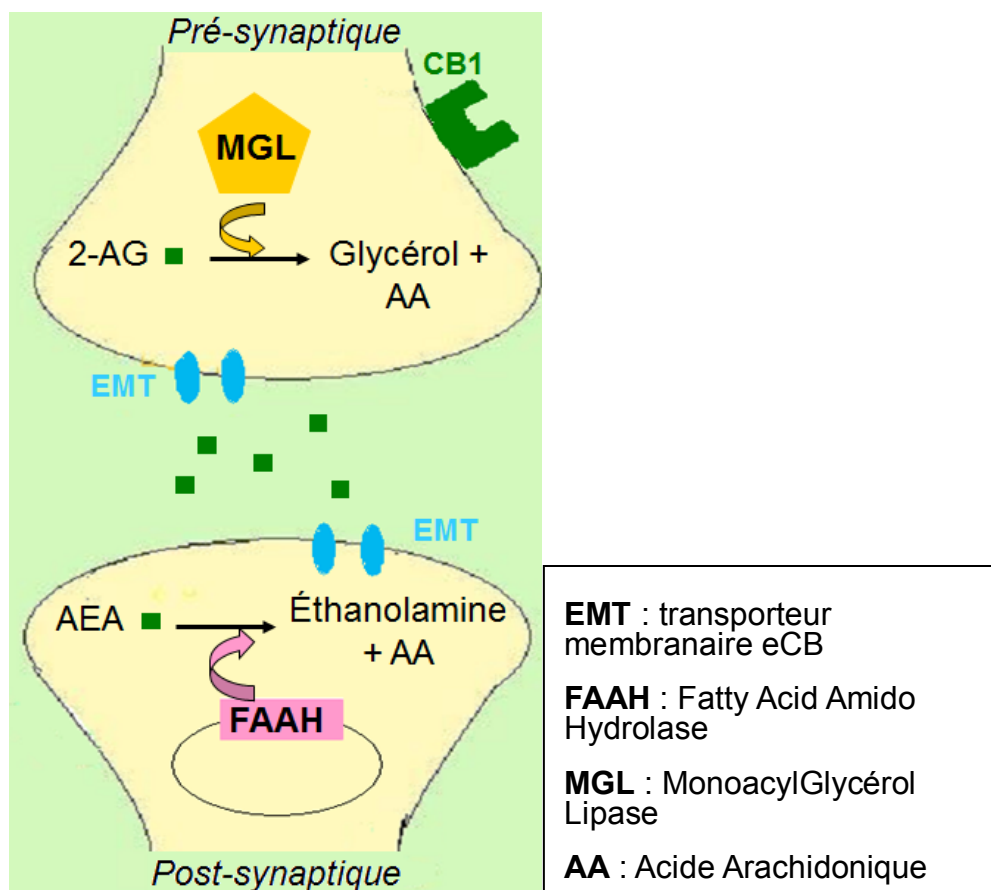
**Figure I-4 :** Voies de synthèse de l'AEA et du 2-AG.

L'AEA et le 2-AG sont synthétisés à partir de deux phospholipides différents, chacun issu de la membrane de la cellule : le phosphatidylethanolamine (PE) et le phosphatidylinositol (PI) respectivement.



**Figure I-5 :** Exemple du mécanisme d'action des endocannabinoïdes.

(1) Activation cellulaire produit le relargage de neurotransmetteurs glutamate et GABA. (2) Fixation des neurotransmetteurs sur leurs récepteurs présents au niveau des neurones dopaminergiques. (3) Déclenchement de la synthèse des eCB. (4) Diffusion passive (non-vésiculaire) des eCB au travers de la membrane lipidique. (5) Action rétrograde des eCB sur la terminaison nerveuse GABAergique. (6) Inhibition de la libération GABA et levée de l'inhibition sur le neurone DA. (Adapté de (Murray and Bevins 2010)).

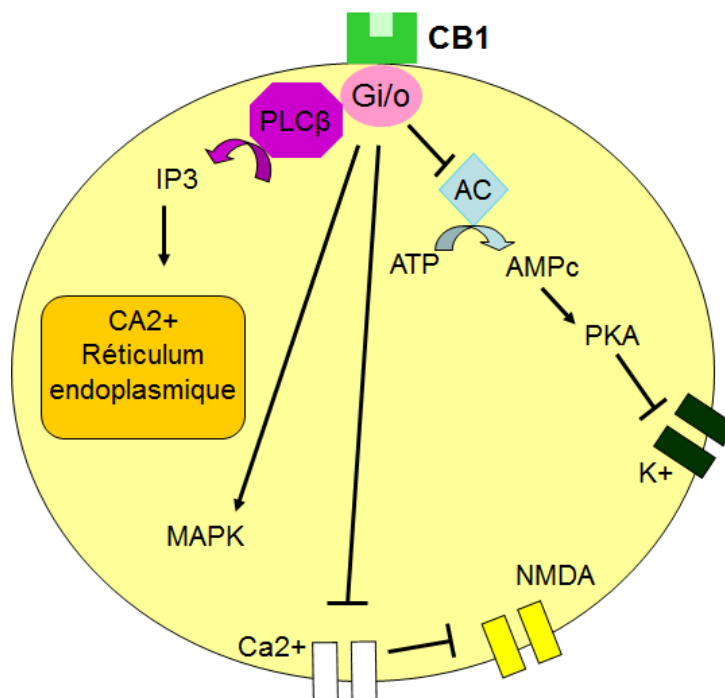


**Figure I-6 :** Mécanisme de dégradation des endocannabinoïdes.

Suite à la diffusion passive facilitée ou à la recapture via l'EMT, les eCB seront dégradés via la MGL au niveau pré-synaptique ou via la FAAH au niveau post-synaptique.

### 2.3 Récepteurs et localisation

Le système eCB compte à ce jour deux types de récepteurs cannabinoïdes : CB1 et CB2. Ce sont des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G de type Gi/o (Howlett 1985). La fixation de l'AEA ou du 2-AG sur ces récepteurs déclenchent plusieurs cascades intracellulaires de signalisation dont : l'inhibition de l'adénylate cyclase, l'activation de la voie des protéines kinase activées par un agent mitogène (MAPK « mitogen-activated protein kinase) et la fermeture ou la réduction de la perméabilité des canaux calciques (**Figure I-7**) (Venance, Maldonado et al. 2004).



**Figure I-7 :** Principales voies de signalisation intracellulaire des endocannabinoïdes.

L'activation de la protéine de type Gi/o à la suite de la stimulation du récepteur CB1 peut conduire : à une inhibition de l'adénylate cyclase (AC) résultant en une diminution de la sensibilité des canaux potassiques ( $K^+$ ) aux variations de potentiel de la membrane; à une fermeture ou une réduction de la perméabilité des canaux calciques ( $Ca^{2+}$ ); à une activation des MAPK; à la mobilisation du  $Ca^{2+}$  intracellulaire stocké dans le réticulum endoplasmique du neurone via la phospholipase C $\beta$  (PLC $\beta$ ). Adapté de (Venance, Maldonado et al. 2004).

De plus en plus d'évidences sont rassemblées en faveur de l'hypothèse d'un récepteur CB3 qui serait un récepteur couplé aux protéines G localisé dans les mêmes zones cérébrales que le CB1 ((Fride, Ffox et al. 2003), pour revue, (Begg, Pacher et al. 2005)). Il existe d'autres récepteurs non-cannabinoïdes avec lesquels les différents types de cannabinoïdes peuvent interagir : 1) les récepteurs vanilloïdes (TRPV «transient receptor potential vanilloid») qui sont impliqués dans la transmission de la douleur et de l'inflammation et qui pourrait être considérés comme l'éventuel canal ionique des eCB (Costa, Giagnoni et al. 2004); 2) le récepteur GPR55, nouveau récepteur atypique cannabinoïde, ayant une implication dans les douleurs neuropathiques (Sharir and Abood 2010); 3) les récepteurs

nucléaires activés par les proliférateurs de peroxyosomes (PPAR « peroxyosome proliferator-activated receptor ») qui joue un rôle dans la régulation du métabolisme (homéostasie, inflammation, différenciation cellulaire) (O'Sullivan 2007).

Les récepteurs cannabinoïdes sont largement exprimés au sein du SNC et en périphérie. Le récepteur CB1 est considéré comme étant le récepteurs couplés aux protéines G le plus abondant au niveau du cerveau des mammifères (Piomelli 2003). Il fût longtemps considéré que les CB1 se retrouvaient uniquement au sein du SNC et les CB2 seulement en périphérie. Plusieurs études récentes ont toutefois réfuté l'existence d'une telle dichotomie; bien que les CB1 soient majoritaires au sein du SNC, on retrouve des CB2 dans quelques régions cérébrales (Svizenska, Dubovy et al. 2008). Une vision générale de leur distribution au sein de l'organisme (homme et rat) est présentée dans le **Tableau I-2**. Il est intéressant de noter que les régions cérébrales associées à la récompense, l'addiction et l'apprentissage telles que le CPF, l'HPC et les ganglions de la base contiennent en majorité des récepteurs CB1 et que ceux-ci sont présents en forte densité. D'autres régions contiennent une plus grande densité de récepteurs CB2; ce sont les aires olfactives, l'aire sensorimotrice et le cervelet. Une distribution distincte se retrouve également dans la périphérie : les CB1 sont majoritairement exprimés au niveau du système digestif tandis que les CB2 sont densément présents au sein du système immunitaire. La quasi-absence de récepteurs CB1 au niveau des noyaux du tronc cérébral qui contrôlent les fonctions vitales telles que le rythme cardiaque, la pression artérielle et la respiration pourrait expliquer l'absence de surdose létale provoquée par le cannabis.

Degré d'expression	Localisation CB1	Localisation CB2
<b>FORT</b>	Ganglions de la base, HPC, AMY, CPF, Cervelet, aires olfactives.  Système digestif	Aires olfactives, cortex sensorimoteurs, noyaux thalamiques, Cervelet.  Système immunitaire
<b>MOYEN</b>	ATV, Noyaux Raphé, SGPA	HPC, SGPA, SNr
<b>FAIBLE</b>	NAc, Thalamus, HT, TC et moëlle épinière	Moëlle épinière

**Tableau I-2 :** Localisation des récepteurs CB1 et CB2 au niveau du SNC et du système périphérique.  
*Abréviations :* AMY : amygdale, ATV : aire tegmentale ventrale, CPF : cortex préfrontal, HPC : hippocampe, HT : hypothalamus, NAc : noyau accumbens, SGPA : substance grise périaqueducule, SNr : substance noire reticulata, TC : tronc cérébral. Adapté de (Mackie 2005, Svizenska, Dubovy et al. 2008).

## 2.4 Affinités des agents cannabinoïdes

Le terme cannabinoïde, est un terme général qui englobe trois catégories de molécules : les eCB, les phytocannabinoïdes, et les cannabinoïdes synthétiques. Nous avons décrit dans la **section 2.2** les molécules qui sont incluses dans le groupe des eCB.

Les phytocannabinoïdes désignent des molécules naturellement présentes dans le cannabis. On a identifié à ce jour plus de 600 constituants incluant plus de 70 cannabinoïdes. Parmi ceux-ci, on retrouve le THC, composé psychoactif majoritaire du cannabis qui est responsable des effets psychotropes du cannabis (Elsohly and Slade 2005).

Les cannabinoïdes synthétiques regroupent les molécules synthétisées par l'homme en laboratoire ayant une structure plus ou moins similaire aux eCB ou aux phytocannabinoïdes; ce sont des outils pharmacologiques très utiles pour mieux comprendre la nature fonctionnelle du système eCB. Selon leurs structures chimiques, on les regroupe en quatre catégories : 1) *les*



*classiques*, composés de molécules dérivées des dibenzopyranes et ayant une structure chimique similaire au THC tel que le (6a*R*)-*trans*-3-(1,1-diméthylheptyl)-6a,7,10,10a-tetrahydro-1-hydroxy-6,6-diméthyl-6*H*-dibenzo[*b,d*]pyrane-9-méthanol (HU210); 2) *les non-classiques*, composés de molécules analogues du THC mais qui ne possède pas de cycle pyrane tel que le (-)-*cis*-3-[2-hydroxy-4-(1,1-diméthylheptyl)phenyl]-*trans*-4-(3-hydroxypropyl)cyclohexanol (CP55,940); 3) *les eicosanoïdes*, composés de molécules dérivés de l'AEA et du 2-AG tel que l'arachidonyl-2'-chloroéthylamide (ACEA); 4) *les aminoalkylindoles*, possédant une structure très différentes des trois autres groupes, tel que le *R*-(+)-[2,3-dihydro-5-méthyl-3-(4-morpholinylméthyl)pyrrolo[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-6-yl]-1-naphthalenylméthanone mesylate (WIN55,212-2) (Pertwee, Howlett et al. 2010).

Le **Tableau I-3** indique les affinités des différents cannabinoïdes aux récepteurs CB1 et CB2.

LIGANDS	Ki CB1 (nM)	Ki CB2 (nM)
<b>Phytocannabinoïdes</b>		
(-)- $\Delta^9$ -THC	5,05 à 80,3	3,13 à 75,3
(+)-Cannabidiol	842	203
<b>Endocannabinoïdes</b>		
AEA	61 à 543	279 à 1940
2-AG	58,3/472	145/1400
Noladin	21,2	>3000
<b>Cannabinoïdes synthétiques type classique</b>		
HU210	0,06 à 0,73	0,17 à 0,52
<b>Cannabinoïdes synthétiques type non-classique</b>		
CP55940	0,5 à 5	0,69 à 2,8
<b>Cannabinoïdes synthétiques type eicosanoïdes</b>		
ACEA	1,4/5,29	195, >2000
ACPA	2,2	715
<b>Cannabinoïdes synthétiques type aminoalkylindol</b>		
R-(+)-WIN55,212-2	1,89 à 123	0,28 à 16,2
<b>Antagoniste/agoniste inverse</b>		
Rimonabant (SR141716A)	1,8 à 12,3	514 à 13200
AM251	7,49	2290

**Tableau I-3 :** Valeurs de la constante d'affinité (Ki) des différents cannabinoïdes aux récepteurs CB1/CB2. Les valeurs ont été déterminées à partir des courbes de déplacement in vitro du [ $^3$ H]CP55940 ou [ $^3$ H]HU-243. Adapté de (Pertwee 2010, Pertwee, Howlett et al. 2010).

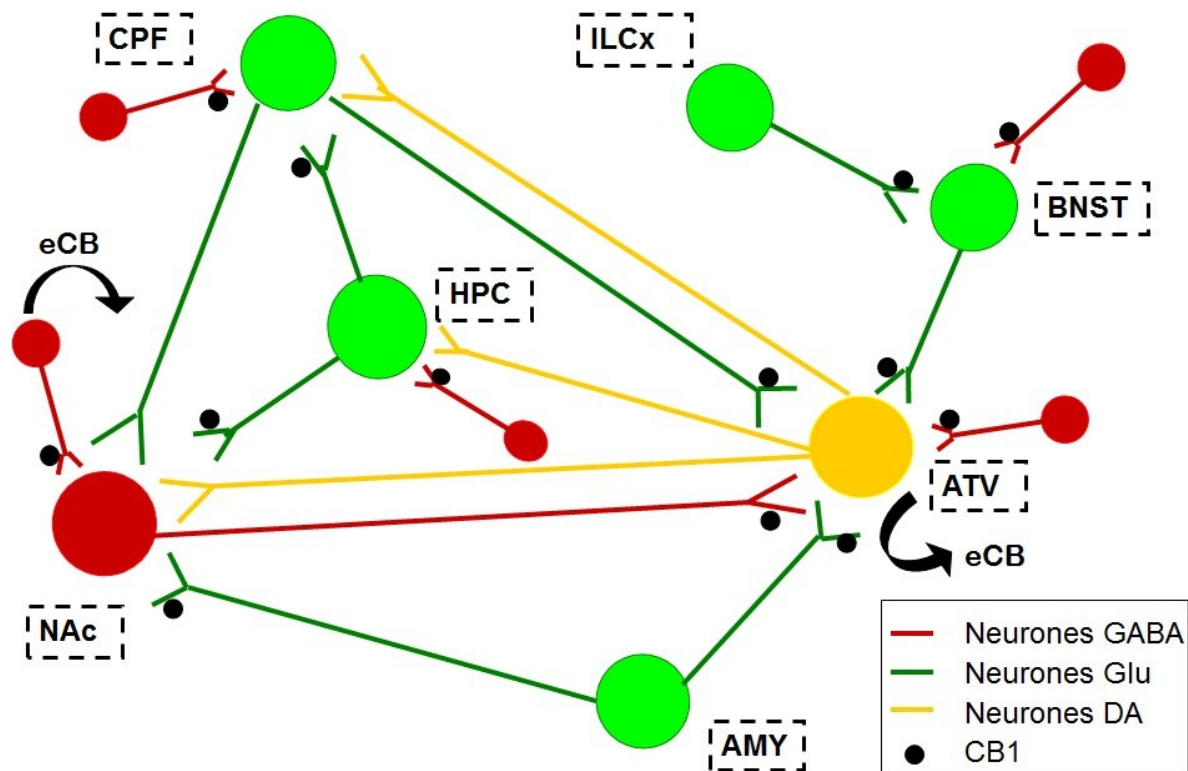
## 2.5 Impact des cannabinoïdes sur la neurotransmission liée à la récompense

Tel que mentionné à la **section 2.3**, les récepteurs CB1 ont une distribution ubiquitaire et abondante au sein du SNC. Ces récepteurs se retrouvent majoritairement sur les terminaisons pré-synaptiques des neurones GABA (neurones inhibiteurs) et glutamatergique (neurones excitateurs) (Riegel and Lupica 2004). La stimulation de ces récepteurs résulte généralement en une inhibition directe de la libération de certains neurotransmetteurs tels que le Glu ou le GABA. La stimulation des récepteurs cannabinoïdes peut également provoquer une excitation indirecte en inhibant des voies inhibitrices (GABA par exemple) qui font synapses sur des voies excitatrices (Glu par exemple); il s'agit alors d'une levée d'inhibition sur des neurones excitateurs (Howlett, Barth et al. 2002). L'action rétrograde négative des eCB (voir

**Figure I-5)** leur confère un rôle important dans le maintien d'un certain équilibre homéostatique dans la transmission GABAergique et glutamatergique. De plus, des études récentes suggèrent que les eCB moduleraient directement la neurotransmission dopaminergique par l'entremise des récepteurs CB1 (Wenger, Moldrich et al. 2003). Ces auteurs ont mis en évidence une colocalisation des CB1 et de la tyrosine hydroxylase (TH, enzyme permettant la synthèse des catécholamines telles que la DA) dans les neurones chez le rat. Cette colocalisation a été observée dans les neurones de l'ATV, du NAc, de certaines zones du striatum et de l'HPC. Chez l'humain, la présence de CB1 a été observée sur des terminaisons dopaminergiques au niveau du néocortex (Steffens, Engler et al. 2004). Malgré cela, il semble que la modulation dopaminergique par les eCB s'effectue principalement de façon indirecte via la modulation de ses afférences GABAergiques et glutamatergiques.

Intéressons-nous plus particulièrement au rôle des eCB au sein du système de la récompense (voir **section 1.3.1**). Plusieurs modèles ont été proposés; ils sont présentés de façon succincte à la **Figure I-8**. Le modèle proposé par Laviolette et Grace (Laviolette and Grace 2006) suppose que l'activation des récepteurs cannabinoïdes sur la voie ATV-CPF-AMY potentialise l'apprentissage émotionnel. Le modèle est constitué d'un réseau de neurones reliant différentes structures du système limbique et exprimant principalement sur leurs terminaisons nerveuses des récepteurs CB1 (**Figure I-8**). Le circuit qui relie le cortex infralimbique (CIL), le noyau du lit de la strie terminale (NLST) et l'ATV est impliqué dans les comportements de recherche de récompense et dans la réponse au stress. L'activation des récepteurs CB1 dans le NLST altère l'excitation des neurones dopaminergiques de l'ATV (dépendant de la balance entre l'activité des neurones Glu et GABA) en réponse à la stimulation du CIL. Cette perturbation du circuit pourrait expliquer l'apprentissage émotionnel

aberrant observé dans l'addiction ou le stress pathologique (Massi, Elezgarai et al. 2008). Enfin, au sein de la voie mésolimbique, le relargage des eCB dans l'ATV module l'effet renforçant de certaines drogues d'abus. Certaines agissent sur des récepteurs présents dans l'ATV et modifient l'activité nerveuse des neurones dopaminergiques et non-dopaminergiques; les eCB peuvent moduler cette activité nerveuse en atténuant la libération synaptique du Glu et/ou du GABA. Dans le cas des psychostimulants, leur mécanisme d'action est différent, puisque ceux-ci induisent un effet de récompense en agissant non pas dans l'ATV mais dans le NAc. En effet, les psychostimulants augmentent la libération de DA en provoquant l'exocytose et/ou en bloquant la protéine de recapture de la DA au niveau des terminaisons nerveuses dopaminergiques dans le NAc. Par conséquent l'effet de récompense des psychostimulants n'est pas modulé directement par la libération des eCB dans l'ATV. Les eCB peuvent toutefois moduler les comportements de recherche de drogue en activant dans le NAc des récepteurs CB1 localisés sur les terminaisons glutamatergiques issues des neurones du CPF; le CPF est une région fortement impliquée dans les processus d'intégration sensorielle liée au processus d'addiction (transformation d'un simple effet renforçant en expérience de plaisir) (Maldonado, Valverde et al. 2006). La consommation chronique de drogues qui caractérise l'addiction et la sensation de plaisir qu'elles procurent, engendre une altération de la mémoire et un désir incontrôlé de la substance. Ces phénomènes résultent d'une altération fonctionnelle du circuit neuronal qui relie l'AMY, l'HPC et l'ATV. Ainsi l'activation des récepteurs CB1 localisés sur les terminaisons glutamatergiques issues de ces structures module l'effet de rechute induit par un stimulus conditionné (mémoire aberrante de la drogue) ou par une ré-exposition à la drogue (motivation aberrante) (pour revue, (Maldonado, Valverde et al. 2006)).



**Figure I-8 :** Schéma illustrant la relation entre le système eCB et les voies reliant différentes régions du système limbique.

*Abréviations :* AMY : amygdale, ATV : aire tegmentale ventrale, CIL : cortex infralimbique, CPF : cortex préfrontal, eCB : endocannabinoïdes, HPC : hippocampe, NLST : noyaux du lit de la strie terminale (« BNST » bed nucleus of the stria terminalis). Adapté de (Laviolette and Grace 2006, Maldonado, Valverde et al. 2006, Massi, Elezgarai et al. 2008).

### 3. ÉVIDENCES DES EFFETS DES CANNABINOÏDES

#### 3.1 Études cliniques

##### 3.1.1 Effets généraux du cannabis

Bien que l'on peut retrouver des écrits sur l'utilisation spirituelle et médicinale remontant aussi loin que plusieurs siècles avant Jésus-Christ en Inde et en Chine, on doit la première description formelle à caractère scientifique des effets psychotropes du cannabis au psychiatre français Jacques-Joseph Moreau (1804-1884). Dans son livre intitulé « Du hachisch et de l'aliénation mentale, études psychologiques » publié en 1845, il relate les effets

physiologiques et psychologiques du cannabis, et il fait un rapprochement avec ses patients « aliénés » qui avaient des hallucinations (Bibliothèque Nationale de France livre disponible au format pdf : <http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k768978>). Les effets psychotropes ressentis par un individu qui consomme du cannabis par inhalation (sous forme de cigarette) durent quelques heures; on peut les diviser en quatre étapes : 1) le « buzz », au cours duquel l'individu ressent de légers étourdissements; 2) le « high », caractéristique de la phase euphorique, avec sensation d'être dans un rêve, accompagnée d'une forte hilarité; 3) la phase « stoned » définit par un état de relaxation/somnolence intense; 4) la phase de « descente » avec dissipation des effets (Iversen 2003). Les effets à court et long terme du cannabis sont de nature physique, physiologique et psychologique (**voir Tableau I-4**).

EFFETS À COURT TERME	EFFETS À LONG TERME
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conjonctive injectée « yeux rouges »</li> <li>• Mydriase (grossissement pupille)</li> <li>• Distorsion de la perception visuelle et auditive</li> <li>• Rire spontané</li> <li>• Augmentation de l'appétit pour le sucré</li> <li>• Somnolence</li> <li>• Perte de mémoire à court terme</li> <li>• Augmentation du rythme cardiaque et hypotension</li> <li>• Hypothermie</li> <li>• Assèchement des muqueuses</li> <li>• Paranoïa, anxiété, panique légère</li> <li>• Hallucination à forte dose</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Déficit cognitifs (mémoire, apprentissage, concentration)</li> <li>• Syndrome amotivationnel</li> <li>• Endommagement système pulmonaire et cardiaque</li> <li>• Dysfonction sexuelle</li> <li>• Risque de développement de psychoses.</li> </ul>

**Tableau I-4 :** *Effets à court et long terme de la consommation de cannabis chez l'homme.*

Les effets à court terme font référence aux effets ressentis pendant les quelques heures qui suivent la consommation, tandis que les effets à long terme sont des effets provoqués suite à une consommation prolongée sur plusieurs années. Informations compilées à partir des données de Santé Canada, de « Canadiens en santé » du gouvernement du Canada, (Green, Kavanagh et al. 2003, Iversen 2003).

### **3.1.2 Effets du cannabis chez les patients atteints de schizophrénie et sur le système endocannabinoïde.**

#### *3.1.2.1 Symptômes*

Longtemps considéré comme une forme d'automédication, l'usage de cannabis chez les patients atteints de schizophrénie a plutôt tendance à aggraver les symptômes de la maladie et les effets secondaires de la médication (D'Souza, Abi-Saab et al. 2005). De manière plus détaillée, les études rapportent que les patients qui consomment du cannabis peuvent devenir réfractaires au traitement (Bowers, Mazure et al. 1990), éprouver des difficultés à maintenir le traitement (Zammit, Moore et al. 2008) et présentent un plus grand nombre de rechutes et de ré-hospitalisations que ceux qui n'en consomment pas (Linszen, Dingemans et al. 1994). Néanmoins, un grand nombre d'études continuent d'apporter des évidences en faveur de l'hypothèse de l'automédication telles qu'une diminution des symptômes négatifs, de la dépression et des effets secondaires de la médication (Addington and Duchak 1997, Goswami, Mattoo et al. 2004). L'apparente complexité du bienfait ou non de l'usage de cannabis parmi les patients atteints de schizophrénie peut s'expliquer par les différentes méthodologies utilisées pour l'évaluer. Notamment l'usage de l'auto-rapport en comparaison à l'observation clinique; la validité des auto-rapports peut être remise en question ou altérée par les difficultés cognitives qu'induit le cannabis. De plus, les études cliniques ne sont pas en mesure de prendre en compte l'intégralité et la particularité de l'historique de chaque patient face à leur maladie et leur consommation. Ceci conduit à une sous-estimation de l'impact des différences interindividuelles ce qui peut sembler contradictoire considérant le contexte multifactoriel de cette maladie. Aussi le type et/ou dosage de cannabis utilisé, le type de schizophrénie, l'historique familial, la comorbidité avec d'autres substances, le moment de la prise de

données (i.e. premier épisode psychotiques, avec ou sans traitement antipsychotique, durée de consommation conjointe avec la maladie) peuvent grandement influencer la nature bénéfique ou délétère du cannabis sur le patient. Ceci pouvant expliquer, dans certain cas, l'observation d'effets bénéfiques à court terme mais dommageables à long terme (pour discussion voir (D'Souza, Abi-Saab et al. 2005, Burns 2013)).

### *3.1.2.2 Effets sur les niveaux d'endocannabinoïdes dans le liquide céphalo-rachidien*

De nombreuses études suggèrent que le système eCB est mis en cause dans la schizophrénie. Chez les patients qui ne sont pas traités avec des antipsychotiques, on a observé des niveaux d'AEA et de palmitoylethanolamide dans le LCR plus élevés que chez les sujets contrôles (Leweke, Giuffrida et al. 1999). Ces auteurs ont rapporté que le traitement avec des antipsychotiques typiques normalise le niveau d'AEA dans le LCR des patients atteints de schizophrénie, mais que les antipsychotiques atypiques n'ont aucun effet (Giuffrida, Leweke et al. 2004). Comme nous l'avons précédemment décrit dans la **section 1.3**, les antipsychotiques typiques agissent préférentiellement en bloquant les récepteurs dopaminergiques D2, tandis que les antipsychotiques atypiques agissent préférentiellement en bloquant les récepteurs sérotoninergiques 5-HT2. Des études conduites chez le rat ont montré que l'activation des récepteurs D2 entraîne une libération d'AEA dans le striatum (Giuffrida, Parsons et al. 1999). Basé sur ces observations, cette équipe a suggéré que l'élévation du niveau d'AEA serait une adaptation homéostatique compensatoire en réaction à une activité dopaminergique aberrante, et que les antipsychotiques typiques normalisent le niveau d'AEA en bloquant les récepteurs D2. De plus, Leweke et al. (Leweke, Giuffrida et al. 2007) ont mis en évidence l'impact éventuel de la fréquence de consommation de cannabis sur les niveaux d'AEA dans le LCR.



Ils ont noté que plus la consommation de cannabis est importante et moins le niveau d'AEA est élevée chez les patients atteints de schizophrénie (Leweke, Giuffrida et al. 2007). Ils interprètent ce résultat en avançant que la consommation de cannabis au-delà d'un certain seuil pourrait entraîner la diminution du niveau d'AEA. Cette hypothèse s'appuie sur des données animales qui montrent qu'une exposition répétée au THC entraîne une diminution du niveau d'AEA dans le striatum (Di Marzo, Berrendero et al. 2000). Dans la même étude, et par opposition aux patients, Leweke et al. (Leweke, Giuffrida et al. 2007) ont rapporté qu'une consommation fréquente de cannabis (plus de 20 fois dans leur vie) n'influence pas le niveau d'AEA chez les sujets sains. À partir de ces observations ils ont conclu qu'une forte consommation de cannabis provoque une diminution du niveau d'AEA seulement dans le cas où le niveau est augmenté de manière pathologique. Enfin, Giuffrida et al. (Giuffrida, Leweke et al. 2004) ont montré une corrélation négative entre les niveaux d'AEA dans le LCR et les symptômes psychotiques chez des patients atteints de schizophrénie en premier épisode psychotique sans traitement. Sachant que la forte consommation de cannabis diminue le niveau d'AEA, il est raisonnable de penser que ce type de consommation exacerber les symptômes ou déclencher de nouveaux épisodes psychotiques. Ceci permet donc de mieux comprendre la relation entre la consommation à court terme et à long terme et les symptômes de la schizophrénie.

### *3.1.2.3 Effets sur les niveaux d'endocannabinoïdes dans le plasma sanguin*

Les études ayant évalué le niveau d'AEA dans le plasma sanguin ont révélé des niveaux plus élevés chez les patients en phase aigüe de schizophrénie qui ne sont pas sous traitement, que chez les sujets sains. De plus, les niveaux ARNm de la FAAH étaient également plus élevés chez ces patients (De Marchi, De Petrocellis et al. 2003). Une autre équipe a corroboré ces données en rapportant des niveaux plus élevés d'AEA plasmatique chez des patients en premier épisode psychotique sans traitement par rapport aux individus sains (Yao et al. 2002). En ce qui concerne les niveaux plasmatiques du 2-AG, bien que similaires entre les patients en premier épisode psychotique et les patients contrôles, ils sont significativement plus bas chez les patients en phase chronique de schizophrénie. Basés sur ces observations, les auteurs ont suggéré que les modifications des niveaux d'AEA seraient indépendantes du stade de la maladie tandis que les niveaux de 2AG seraient en lien avec la progression de la maladie (Yao et al. 2002). Néanmoins, l'impact sur les niveaux plasmatiques d'AEA reste incertain puisque d'autres études montrent une élévation de ces niveaux cette fois chez des patients traités avec différents types d'antipsychotiques (Potvin, Kouassi et al. 2008). À l'issue d'une autre étude, cette même équipe a suggéré que les altérations des niveaux plasmatiques d'AEA seraient une caractéristique propre à l'abus de substance plutôt qu'à la schizophrénie (Desfosses, Stip et al. 2012). Bien que Leweke et al. aient rapporté une élévation des niveaux d'AEA dans le LCR chez les patients non-traités, en premier épisode psychotique, ils n'ont pas détecté d'altération de ces niveaux au niveau plasmatique (Leweke, Giuffrida et al. 2007). Il est fort possible que le niveau plasmatique rende plus compte d'une altération du système eCB périphérique que central.

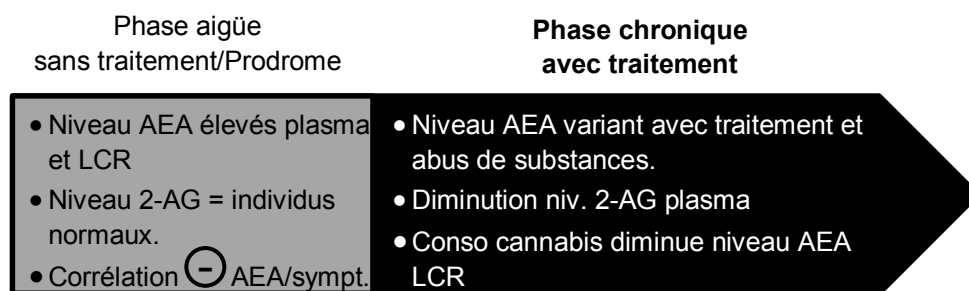
#### *3.1.2.4 Niveaux d'expression des récepteurs cannabinoïdes*

La distribution des récepteurs CB1 est également altérée chez les patients atteints de schizophrénie. Il est intéressant de remarquer que les régions cérébrales présentant la plus forte densité de récepteurs CB1 sont le CPF, les ganglions de la bases, l'HPC et le cortex cingulaire antérieur (CCA), des régions fortement impliqués dans la schizophrénie (Del Arco and Mora 2009). Les études post-mortem sur des cerveaux de patients atteints de schizophrénie et des cerveaux de sujets sains révèlent une augmentation de la liaison aux CB1 dans le CPF dorsolatéral (Dean, Sundram et al. 2001), une augmentation de la densité des CB1 dans le CCA région liée au CPF (Zavitsanou, Garrick et al. 2004), et dans le cortex cingulaire postérieur (Newell, Deng et al. 2006). Le cortex cingulaire est une région impliquée dans les processus de cognition telle que l'intégration des informations émotionnelles et intéroceptives.

#### *3.1.2.5 Neuroimagerie*

Enfin, les études de neuroimageries réalisées sur des patients atteints de schizophrénie ont rapporté une réduction caractéristique de la matière cérébrale blanche et grise qui progresse tout au long de la maladie (Cahn, van Haren et al. 2006, Chua, Cheung et al. 2007). Les études portant sur l'impact de la consommation de cannabis chez ces patients a généré des données contradictoires, certaines détectant une diminution du volume cérébral plus prononcée au sein du cortex cingulaire chez des patients en premier épisode psychotique (Bangalore, Prasad et al. 2008), d'autres ne montrent aucune variation de volume cérébral (Cahn, Hulshoff Pol et al. 2004). Il est également important de noter que les traitements antipsychotiques, chez des patients en premier épisode psychotique, affectent la morphologie

cérébrale, notamment dans le cas des antipsychotiques typiques comme l'halopéridol; ils peuvent donc être la cause des différences rapportées dans la littérature (Lieberman, Tollefson et al. 2005).



**Figure I- 9:** *Évolution des niveaux d'endocannabinoïdes durant la progression de la schizophrénie.*  
Récapitulatif des études mentionnées dans la section 3.1.2. Concernant le prodrome, il semblerait que l'élévation des niveaux d'AEA dans le LCR et le plasma soit un signe précurseur de la future expression de la maladie (Koethe, Giuffrida et al. 2009).

L'ensemble de ces données (schématiser à la **Figure I-9**) suggère à la fois l'impact non négligeable du cannabis chez les patients atteints de schizophrénie; il appuie également l'hypothèse d'un rôle neuromodulateur du système eCB dans cette maladie. Les évidences de l'implication de ce système permettent de le considérer comme une cible prometteuse pour de nouveaux traitements. À titre d'exemple, nous pouvons mentionner le Cannabidiol (2<sup>e</sup> composé majoritaire du cannabis et non-psychoactif, CBD) qui pourrait avoir des propriétés médicamenteuses similaires à celles des antipsychotiques atypiques (pour revue (Zuardi, Crippa et al. 2012)). Zuardi et al. (Zuardi, Crippa et al. 2012) font référence à plusieurs études pré-cliniques et cliniques montrant que le CBD améliore les symptômes psychotiques à des doses qui ne provoquent pas de symptômes extrapyramidaux. L'investigation de cette molécule dans le cadre de la schizophrénie a reçu plus d'attention suites à des rapports soulignant que des patients présentaient plus d'épisodes psychotiques après la consommation

de cannabis quasiment dépourvu de CBD (Rottanburg, Robins et al. 1982, Di Forti, Morgan et al. 2009).

### ***3.2 Études animales : les effets motivationnels des cannabinoïdes***

#### **3.2.1 Symptômes**

Chez l'animal, les effets caractéristiques des cannabinoïdes sont regroupés sous l'appellation de « tétrade cannabique ». Ces quatre symptômes sont : l'hypothermie, l'hypolocomotion, la catalepsie et l'analgésie (Dewey 1986, Adams and Martin 1996). Dans le cas de la locomotion, la courbe dose-réponse n'est pas linéaire; à faibles doses on observe une hyperlocomotion (Sakurai, Ohta et al. 1985, McGregor, Issakidis et al. 1996) alors qu'à fortes doses on observe une hypolocomotion (Rinaldi-Carmona, Barth et al. 1994, Anderson, Kask et al. 1996). D'autres effets comportementaux ont été mesuré chez l'animal comme des déficits d'apprentissage et de mémoire, des effets anxiolytiques/anxiogènes selon la dose, de l'hyperphagie et des effets sur la motivation sur lesquels nous allons nous attarder plus particulièrement (pour revue (Chaperon and Thiebot 1999)). Les effets de récompense des cannabinoïdes chez l'animal ont fait l'objet d'un grand nombre d'études portant sur différents cannabinoïdes et utilisant différents paradigmes comportementaux. L'accent sera mis sur les paradigmes tels que l'auto-administration intraveineuse/intracérébrale (AAIV/AAIC), l'autostimulation électrique intracérébrale (ASI) et la préférence de place conditionnée (PPC) (pour un aperçu de ces paradigmes veuillez consulter la référence (Le Moal 2005)). Pour plus de détails, le lecteur peut consulter deux excellents articles de revue de la littérature sur ce sujet; ils présentent l'impact de plusieurs composés cannabinoïdes (phytocannabinoïdes tel que le THC ou le CBD; cannabinoïdes synthétiques tels que le WIN ou le CP55,940; eCB tels

que l'anandamide (AEA) ou le 2-AG) (Maldonado, Berrendero et al. 2011, Vlachou and Panagis 2013).

### **3.2.2 Études avec les tests d'auto-administration intraveineuse et intracérébrale**

#### *3.2.2.1 Le modèle comportemental*

L'AAIV ou l'AAIC sont deux paradigmes permettant de déterminer si une drogue produit un effet de récompense et peut induire un comportement d'auto-administration. L'animal est porteur d'un cathéter intraveineux (AAIV) ou d'une canule d'injection implantée dans une zone précise du cerveau (AAIC). L'animal est placé dans une cage de conditionnement opérant munie d'un levier qui est relié à une pompe qui permet d'administrer une petite quantité de drogue via le cathéter ou la canule d'injection; l'appui sur le levier active la pompe et une injection d'une dose fixe de drogue est administrée. Si la drogue produit un effet de récompense, l'animal va associer l'effet de la drogue à l'appui sur le levier ce qui aura pour conséquence de renforcer le comportement d'appui ou la réponse opérante. Généralement on utilise une séquence de renforcement à rapport fixe ou à rapport progressif. Si le rapport fixe est 1 chaque appui sur le levier active la pompe; si le rapport est 5, c'est le cinquième appui qui active la pompe. Le rapport progressif est un rapport fixe dont le nombre augmente progressivement après chaque injection; il permet de mieux évaluer la valeur renforçante d'une dose donnée de drogue. Ces paradigmes permettent d'étudier les variables qui contribuent au maintien de la consommation de la drogue. L'AAIC est un modèle utilisé en laboratoire pour déterminer dans quelles régions du cerveau la drogue agit pour induire la récompense. Le sevrage de l'animal après une période continue (plusieurs jours voire semaines) d'AAIV permet de modéliser l'expérience de cessation de consommation chez

l'homme. Aussi, il permet de modéliser le phénomène de rechute et d'étudier les variables qui y contribuent. Ces paradigmes présentent une excellente validité d'aspect (similitude du comportement de prise de drogue entre l'homme et l'animal) et de construit (mesures adéquates des variables présentes chez l'homme soient la consommation, l'escalade motivationnelle de la consommation, le sevrage et la rechute).

### *3.2.2.2 Données obtenues*

Alors qu'il est facile d'entraîner des rongeurs à s'auto-administrer des drogues psychostimulantes telles que la cocaïne et l'amphétamine, ou des opiacés telles que la morphine et l'héroïne, il a été plutôt difficile d'entraîner ces animaux à s'auto-administrer des agents cannabinoïdes. Ainsi, plusieurs études rapportent de l'AAIV ou de l'AAIC avec différents cannabinoïdes en appliquant une restriction alimentaire ou hydrique. Concernant l'AAIV de THC, elle fût originellement établie chez le singe dans des conditions de restriction alimentaire ou chez des animaux ayant déjà été entraînés à s'auto-administrer d'autres drogues telles que la cocaïne (Tanda, Munzar et al. 2000). L'incapacité d'établir ce comportement hors restriction ou chez des animaux naïfs semblait être due à la dose proposée. En effet, avec une plus faible dose de THC, mais qui est comparable à celle reçue par l'individu qui fume du cannabis, Justinova et al. (Justinova, Tanda et al. 2003) ont pu mettre en évidence l'AAIV chez le singe. D'autres études ont montré que des doses faibles d'eCB tels que l'AEA et le 2-AG soutiennent l'AAIV chez le singe (Justinova, Solinas et al. 2005, Justinova, Yasar et al. 2011). Chez les rongeurs, l'AAIV de cannabinoïdes est possible uniquement sous une condition de restriction alimentaire ou hydrique; même dans ces conditions seul le WIN à très faibles doses est auto-administré (Fattore, Cossu et al. 2001, Fadda, Scherma et al. 2006,

Lecca, Cacciapaglia et al. 2006, Fattore, Vigano et al. 2007). Il est plus facile d'induire de l'AAIC. Les études rapportent que le THC (Braidà, Iosue et al. 2004, Zangen, Solinas et al. 2006) et le CP55,940 (Braidà, Pozzi et al. 2001) est auto-administrés chez le rat soit en intracérébroventriculaire soit au sein de l'ATV ou de la partie ventrale du NAc (« NAc shell »), mais des restrictions notamment hydrique sont appliquées conjointement. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer la faible propension des agents cannabinoïdes à induire l'AAIV chez l'animal alors que certains humains le consomment de façon compulsive. Les cannabinoïdes utilisés dans les expériences d'AAIV chez le rongeur ne représentent qu'un (ou ne miment l'action d'un) élément de la drogue consommée chez l'homme. Le THC est considéré comme le seul agent actif du cannabis induisant un effet de récompense; ceci semble plutôt étonnant dans la mesure où aucun être humain ne consomme du THC pur dans un but récréatif. Comme nous l'avons mentionné à la **section 2.4**, le cannabis est constitué de plus de 600 constituants dont plus de 70 sont des cannabinoïdes. Bien que le THC soit le composé psychoactif majoritaire de la plante, l'interaction avec les autres composés cannabinoïdes qu'elle contient pourrait intervenir dans l'effet global ou contribuer à atténuer les effets aversifs du THC (Russo and McPartland 2003). Une autre explication vient de la nature lipophile du THC qui le rend difficilement injectable sous une forme stable et homogène sur une période de temps étendue. La mise en place d'un solvant adéquat a donc retardé l'utilisation de ce composé pour les études d'AAIV. On ne peut aussi écarter l'hypothèse que la difficulté à obtenir de l'AAIV de cannabinoïdes chez le rongeur contrairement au singe viendrait d'une différence d'espèce. Il est raisonnable d'envisager qu'une différence au niveau de la répartition des récepteurs cannabinoïdes, du métabolisme et de la physiologie des singes comparés aux rats puissent interférer dans les effets perçus et la motivation pour consommer



des cannabinoïdes. Tel que mentionné précédemment, il est possible d'entraîner des rats pour l'AAIV de WIN mais pas de THC. Le THC est un agoniste partiel aux récepteurs CB1 et CB2 alors que le WIN est un agoniste complet. Une différence au niveau de la pharmacodynamie des molécules pourrait expliquer les résultats d'AAIV. Enfin, la nécessité d'appliquer des conditions restrictives pour obtenir une AAIV de cannabinoïdes montre qu'un état physiologique altéré et déplaisant est nécessaire pour motiver la consommation de ces drogues; ceci laisse croire qu'elles agissent dans ces conditions comme un renforcement négatif, c'est-à-dire qu'elles atténuent un certains malaises causés par la ou les restrictions.

### **3.2.3 Études avec le test d'autostimulation intracérébrale**

#### *3.2.3.1 Le modèle comportemental*

L'ASI est un autre modèle animal qui permet de déterminer si une drogue induit un effet de récompense ou un effet aversif. Dans ce modèle, une électrode de stimulation est implantée dans une région du cerveau qui contient des neurones qui sont normalement activés par une récompense; l'électrode permet de les activer électriquement. On entraîne donc l'animal à produire une réponse opérante (appui sur un levier) pour obtenir une courte salve de pulsions électriques (généralement d'une durée de 0.5 sec). Si la stimulation électrique induit un effet de récompense, l'animal va l'associer à l'appui sur le levier et la réponse opérante sera renforcée. Dans ce modèle on utilise presque uniquement une séquence à rapport fixe de 1; chaque appui sur le levier déclenche la stimulation. Une fois l'animal bien entraîné on détermine un seuil d'induction de récompense de la stimulation électrique; la procédure est décrite plus en détails au chapitre **Méthodologie illustrée, section 2.3**. L'administration systémique d'une drogue qui induit un effet de récompense réduit le seuil; on infère que la

drogue stimule les neurones ou amplifie le signal de récompense et qu'il y a une sommation de l'effet de la drogue et l'effet de la stimulation électrique. Si une drogue augmente le seuil, on infère qu'elle inhibe les neurones ou le signal de récompense c'est pourquoi il est nécessaire d'augmenter la force de la stimulation électrique pour atteindre le seuil; l'inhibition du circuit neuronal de la récompense peut être associée à une aversion.

### *3.2.3.2 Données obtenues*

Les études réalisées chez le rongeur afin de déterminer les effets des cannabinoïdes au moyen de ce modèle ont généré des résultats controversés. Une seule équipe à ce jour a rapporté un effet de récompense ou de réduction du seuil après une injection intrapéritonéale (i.p) de THC (Gardner, Paredes et al. 1988, Lepore, Liu et al. 1996). Il semble que la souche de rats utilisée soit une variable critique pour pouvoir détecter un effet de récompense. En effet, l'équipe de Gardner qui a étudié trois souches de rongeur a montré que le THC induit un effet de récompense chez les rats Lewis mais pas chez les Sprague-Dawley ni le Fischer 344 (Lepore, Liu et al. 1996). À l'instar de l'équipe de Gardner, Fokos et Panagis n'ont obtenu aucun changement de seuil avec une faible dose de THC chez des rats Sprague-Dawley (Fokos and Panagis 2010). Un plus grand nombre d'études ont rapporté une atténuation de l'effet de récompense (augmentation du seuil) après une injection de THC (Stark and Dews 1980, Vlachou, Nomikos et al. 2007), de WIN (Vlachou, Nomikos et al. 2003, Vlachou, Nomikos et al. 2005, Mavrikaki, Markaki et al. 2010) et de CP55,940 (Vlachou, Nomikos et al. 2005). Notons que dans ces études, les tests ont été réalisés sur une large gamme de doses. À notre connaissance, aucun eCB n'a été testé avec le modèle d'ASI. Devant ces résultats majoritairement en faveur d'une atténuation de l'effet de récompense induit par la stimulation

électrique intracérébrale en réponse à divers cannabinoïdes, nous pouvons nous interroger sur la fidélité des résultats rapportés par l'équipe de Gardner. Plusieurs explications peuvent être avancées pour expliquer leurs résultats: 1) l'utilisation de différentes souches de rats tel mentionné précédemment. Il est connu que les rats Lewis sont beaucoup plus sensibles que toutes les autres souches à l'effet de récompense induit par diverses drogues d'abus. Aussi, la majorité des études ayant testées différents cannabinoïdes à différentes doses ont utilisé d'autres souches de rats que les Lewis; 2) Lorsqu'on analyse les résultats de l'équipe de Gardner, on constate que la réduction du seuil induit par le THC est très petite, étant inférieur à 0.1 unité logarithmique (log). Or, dans bon nombres d'études d'ASI, le critère de stabilité de base, ou de variabilité, du seuil de récompense est justement fixé à 0.1 log. Ceci pourrait expliquer pourquoi l'équipe de Gardner est la seule à prétendre avoir mesuré une réduction du seuil de l'ASI avec le THC.

### **3.2.4 Études avec la préférence de place conditionnée**

#### *3.2.4.1 Le modèle comportemental*

Un autre modèle animal utilisé pour déterminer si une drogue induit un effet de récompense ou un effet aversif est le conditionnement Pavlovien de PPC. Pour ce modèle on utilise une enceinte qui est constituée de deux ou trois compartiments qui se distinguent par leur couleur, leur forme, et la texture du plancher. Pour simplifier la présentation du modèle et la description de la procédure, nous supposons que l'on utilise une enceinte ayant deux compartiments distincts. La procédure comprend trois phases. Au cours d'une première phase, on place l'animal dans l'enceinte puis on lui permet d'explorer les deux compartiments pendant 30 min sur deux jours consécutifs. Au troisième jour, on détermine la préférence

basale de l'animal pour les compartiments. La seconde phase, la phase de conditionnement débute le quatrième jour. On injecte l'animal avec la drogue puis on le confine dans un des compartiments pour 20 min. Le jour suivant, on lui injecte le solvant et on le confine dans l'autre compartiment pour 20 min. Ces deux tests sont répétés trois fois ou plus puis le jour suivant le dernier test de conditionnement, l'animal est placé au centre de l'enceinte et on mesure le temps passé dans chacun des compartiments pendant un test qui dure 30 min. Si la drogue induit un effet de récompense, l'animal va passer plus de temps dans le compartiment associé à la drogue que dans le compartiment associé au solvant. Il s'agit d'un conditionnement Pavlovien (ou classique) standard. La drogue qui est le stimulus inconditionné, a été associée au compartiment qui est le stimulus conditionné. Suite à l'association répétée, le stimulus conditionné induit une réponse conditionnée, un effet similaire à la drogue, qui s'exprime par une préférence pour le compartiment associé à la drogue. Si la drogue induit un effet aversif, alors le stimulus conditionné induira une réponse conditionnée aversive et l'animal évitera le compartiment associé à la drogue (voir **chapitre Méthologie illustrée, section 2.2** pour plus de détails).

#### *3.2.4.2 Données obtenues*

Les études des effets de récompense ou d'aversion des cannabinoïdes réalisées avec ce modèle, à l'instar des autres modèles, ont généré des résultats controversés. La majorité des études chez le rongeur (rat et souris) avec le THC rapportent une aversion de place conditionnée (APC) ou encore un effet neutre à des doses moyennes et fortes (Lepore, Vorel et al. 1995, Parker and Gillies 1995, Sanudo-Pena, Tsou et al. 1997, Hutcheson, Tzavara et al. 1998, Mallet and Beninger 1998, Cheer, Kendall et al. 2000, Valjent and Maldonado 2000,

Vlachou, Nomikos et al. 2007). Par opposition, de très faibles doses de THC, (inférieures à 1.0 mg/kg), produisent une PPC chez le rat (Braidà, Iosue et al. 2004, Le Foll, Wiggins et al. 2006). L'équipe de Gardner a toutefois rapporté des résultats tout à fait opposés, c'est-à-dire une APC avec une dose moyenne de THC et une PPC avec une dose forte de THC (Lepore, Vorel et al. 1995). Il est difficile d'expliquer cette différence. On peut noter cependant que Lepore et al. (Lepore, Vorel et al. 1995) ont utilisé une souche de rat différente de celles utilisées dans toutes les autres études. Il semble que le protocole d'injection pendant la phase de conditionnement influence grandement la valence de l'effet motivationnel mesuré avec le THC. En effet, plusieurs études rapportent qu'une pré-exposition à la drogue (« priming ») 24h avant le début de la phase de conditionnement ou une période de sevrage entre deux injections de THC, permet de mettre en évidence une PPC (Lepore, Vorel et al. 1995, Valjent and Maldonado 2000). Ces modifications permettraient d'éviter ou de supprimer la dysphorie induite par le THC; la dysphorie apparaît après l'effet renforçant (Lepore, Vorel et al. 1995) ou lors de la première exposition à la drogue (Valjent and Maldonado 2000). Si l'on considère les trois études qui ont testé l'effet du WIN dans ce paradigme, l'une rapporte chez des rats Wistar une APC à toutes les doses (faibles à fortes) (Chaperon, Soubrie et al. 1998, Pandolfo, Vendruscolo et al. 2009), tandis qu'aucun effet n'est mesuré avec des doses faibles à moyennes chez les Sprague-Dawley (Polissidis, Chouliara et al. 2009). Concernant le CP55,940, une seule étude réalisée avec des rats Wistar a rapporté une PPC (Braidà, Pozzi et al. 2001).

### **3.2.5 Peut-on expliquer les résultats contradictoires obtenus avec les différents tests comportementaux ?**

Plusieurs variables peuvent expliquer la divergence des résultats comme nous l'avons mentionné précédemment. Il y a : 1) le protocole d'injection avant et pendant la phase de conditionnement; 2) la souche de rat utilisée; 3) les différents solvants utilisés pour dissoudre les cannabinoïdes. Comme nous l'avons discuté dans le paragraphe sur l'AAIV, les cannabinoïdes sont des composés lipophiles. Aussi leur dissolution nécessite souvent de l'éthanol et un corps gras comme le Tween80 ou le Cremophor. La 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrine est aussi utilisée pour faciliter la dissolution des cannabinoïdes. Il s'agit d'une molécule « cage » qui permet d'emprisonner les molécules lipophiles et les rendre ainsi soluble dans l'eau. Les études faisant usage de ce composé montre une PPC (Lepore, Vorel et al. 1995, Le Foll, Wiggins et al. 2006). Ainsi, il est probable que l'usage de certain solvant comme le DMSO et/ou l'éthanol interfère dans l'effet motivationnel des cannabinoïdes perçus par l'animal. Pourtant, les études en faisant usage indiquent que les doses d'éthanol et de DMSO utilisées sont bien inférieures au seuil d'induction d'effets physiologiques. Aussi, la procédure expérimentale utilisée permet de contrôler cette variable. Le solvant est associé avec l'un des compartiments et si un effet motivationnel est induit il est possible de le mesurer. Or, dans les différentes études mentionnées, aucun effet de ces solvants n'a été reporté; 4) enfin mentionnons que les protocoles de conditionnement (3 ou 4 conditionnements associant la drogue à l'environnement) ainsi que le type d'enceinte utilisée (2 ou 3 compartiments ou plusieurs sections dans un paradigme « open-field ») diffèrent d'une étude à l'autre. L'utilisation d'une enceinte à trois compartiments permet de mieux détecter l'effet motivationnel (aversion ou préférence) et l'effet neutre. En effet, avec une enceinte à

seulement 2 compartiments, il est difficile de déterminer si l'animal évite le compartiment associé avec le solvant ou s'il préfère le compartiment associé avec la drogue; il n'a pas la possibilité de se réfugier dans un compartiment neutre.

Nous avons vu dans cette section que les cannabinoïdes peuvent altérer le système de récompense dans une direction qui dépend des conditions expérimentales, autant chez les animaux que chez l'homme. La section suivante sera entièrement consacrée à l'étude du système de récompense et de l'impact des cannabinoïdes sur des modèles animaux de la schizophrénie.

#### **4. LE SYSTÈME DE RÉCOMPENSE DANS LES MODÈLES ANIMAUX DE LA SCHIZOPHRÉNIE**

Tel que mentionné à la **section 1.1**, la schizophrénie est une maladie mentale qui se caractérise par une perte de contact avec la réalité autant au niveau personnel, émotionnel que contextuel. Elle se définit par des symptômes positifs (hallucination, délire, langage incohérent), des symptômes négatifs (retrait social, dysfonctionnements cognitifs, apathie) et des symptômes cognitifs (troubles d'attention, d'organisation, de décision, de mémoire et d'anticipation). À la lumière de la complexité et diversité de ces symptômes, il apparaît impossible de modéliser chez l'animal l'ensemble des symptômes caractérisant la schizophrénie. Néanmoins, selon le Forum de Recherche sur la Schizophrénie, 87 modèles animaux de la schizophrénie y sont listés et classés en quatre catégories: pharmacologique, génétique, neurodéveloppemental et lésionnel (<http://www.schizophreniaforum.org/res/models/default.asp>, sur cette page vous trouverez un lien à cliquer « Animal models for schizophrenia » qui vous donnera accès au tableau des 87

modèles). Le **Tableau I-5** donne une liste non-exhaustive des effets des différents modèles qui vont être exposés. Ceci permettant une comparaison rapide entre ces modèles.



Modèles animaux	Validité de construit	Validité d'aspect							Validité prédictive
		Hyperactivité réponse nouv./stress	Hyperactivité amphétamine /PCP	Déficit attention	Déficit PPI	Déficit mémoire	Déficit interact. sociale	Neurotransmission/ Neuroanatomie	
Modèles pharmacologiques									
Sensibilisation Amphétamine	+	Ø	√	√	√	X	Ø	↑DA dans NAc	+
Traitement PCP	+	Ø	√	√	√	√	√	↓DA basale CPF	+++
Modèles génétiques									
DISC1-L100P	++	√	√	Ø	√	X	X	↓taille cerveau et élargissement ventricule latéraux Pas ↑ DA striatum	+++
COMT Val158Met	++	Ø	X	√	X	√	Ø	↑TH CPF	Ø
Modèles neurodéveloppementaux									
Poly I :C	+++	Ø	√	Ø	√	√	√	↑TH striatum, ↑DA basale CPF, perturbation GABA/Glu	+
MAM	+++	√	√	X	√	√	√	↓ volume HPC et CPF, élargissement ventricule latéraux, ↑ activité DA	Ø
Modèles lésionnels									
NVHL	+++	√	√	√	√	√	√	Voir tableau I-6 section 4.1.4	+++

**Tableau I-5:** Comparaison d'une sélection de modèles de schizophrénie.

*Abréviations :* Ø : données non disponibles, √ : oui, X : non, + : faible, ++ : moyen, +++ : excellent, ↑ : augmentation, ↓ : diminution, CPF : cortex préfrontal, DA : dopamine, Glu : glutamate, HPC : hippocampe, interact. : interaction, NAc; noyau accumbens, nouv : nouveauté, TH : tyrosine hydroxylase.

## **4.1 Les modèles animaux de la schizophrénie**

Dans cette section, nous présenterons une sélection des modèles les plus utilisés ainsi que leurs différentes validités : 1) *la validité de construit* qui réfère à la capacité du modèle à mesurer le construit théorique que l'on veut mesurer; 2) *la validité d'aspect* indiquant les similarités entre les symptômes existant chez les patients et ceux observés dans le modèle animal; 3) *la validité prédictive* qui permet l'extrapolation des données recueillies de l'animal à l'homme.

### **4.1.1 Les modèles pharmacologiques**

Les modèles pharmacologiques ont été les premiers modèles de schizophrénie à être élaborés. Les modèles pharmacologiques sont basés sur l'observation que certaines molécules induisent des anomalies comportementales et/ou cognitives similaires à celles que l'on observe chez le patient atteint de schizophrénie. Les deux molécules les plus utilisées sont l'amphétamine et la phencyclidine (PCP).

#### **4.1.1.1 Le modèle de sensibilisation à l'amphétamine**

Le modèle de sensibilisation à l'amphétamine consiste à administrer à un animal (rat, souris, singe) des doses croissantes d'amphétamine sur une période pouvant aller de quelques jours à plusieurs semaines (Featherstone, Kapur et al. 2007). Après une période variable de sevrage, l'animal est soumis à une batterie de tests permettant de mesurer certaines anomalies se rapprochant de celles présentes chez les patients atteints de schizophrénies. La validité de construit de ce modèle se base sur le fait que l'administration aiguë d'amphétamine peut produire ou augmenter les symptômes psychotiques du patient à des doses inefficaces chez

l'individu sain, et que l'exposition à l'amphétamine peut induire des psychoses chez des individus non-psychotiques (Curran, Byrappa et al. 2004). Cette validité est cependant questionnable car la consommation de psychostimulants ne déclenche pas la maladie chez tous les abuseurs. Les résultats obtenus avec ce modèle dans différentes études rapportent au niveau comportemental : 1) une hyperlocomotion en réponse à une injection d'amphétamine par rapport à des animaux contrôles jamais pré-exposé à la drogue (Tenn, Fletcher et al. 2003); 2) une diminution de l'attention dans le test du temps de réaction de cinq choix en série (5-CSRTT « 5-choice serial reaction time test ») caractérisée par une augmentation du nombre d'omissions et d'erreurs (Fletcher, Tenn et al. 2007). Dans ce test, l'animal doit porter son attention à un signal lumineux court qui apparaît au-dessus d'une ouverture; le signal indique à l'animal où il doit insérer son museau pour obtenir une récompense; 3) un déficit au test d'inhibition par Pré-Pulse sonore du réflexe de sursaut (PPI « Pre-Pulse Inhibition »). Ce test permet d'évaluer la capacité de filtrer les stimuli extérieurs, capacité fortement altérée chez les patients atteints de schizophrénie (Braff and Geyer 1990). Les résultats obtenus avec ce test restent controversés et semblent dépendre du protocole de sensibilisation (pour revue, Featherstone, Kapur et al. 2007); 4) aucun effet sur la mémoire de travail (Shoblock, Maisonneuve et al. 2003) ou la mémoire à long-terme dépendante de l'HPC (Russig, Durrer et al. 2003). Au niveau de la neurotransmission et de la neuroanatomie, les études chez l'animal rapportent une augmentation de la libération de DA dans le NAc (Paulson and Robinson 1995) et une altération de la capacité de l'amphétamine à déclencher la libération de DA au sein du CPF (Hedou, Homberg et al. 2001). Les anomalies observées dans ce modèle s'apparentent à celles que l'on observe chez les patients renforçant la validité d'aspect de ce modèle. Par exemple, Laruelle et al. (Laruelle, Abi-Dargham et al. 1996) ont montré que l'administration

d'amphétamine à des patients atteints de schizophrénies provoque une plus grande libération synaptique de DA dans le striatum que chez les sujets sains. Concernant les déficits cognitifs que nous avons soulignés pour ce modèle, ils sont partiellement en accord avec ce que l'on observe chez les patients. Le patient présente des déficits dans plusieurs domaines de la cognition tels que l'attention, la prise de décision et la mémoire de travail (Green, Nuechterlein et al. 2004). Bien que l'on observe un déficit d'attention et des fonctions exécutrices aucune atteinte de la mémoire de travail et la mémoire à long terme n'a pu être mise en évidence dans ce modèle. Enfin, une réduction du flux sanguin du CPF a été mesurée chez les patients attestant d'une altération de l'attention, déficit mesuré avec ce modèle animal (Daniel, Weinberger et al. 1991). La validité prédictive n'a été que peu étudiée. Seul un renversement du déficit en PPI par l'halopéridol et la clozapine a été démontré (Russig, Murphy et al. 2002). Le point faible de ce modèle reste qu'il ne tient pas compte de l'aspect multifactoriel et neurodéveloppemental de la schizophrénie.

#### *4.1.1.2 Le modèle de traitement aigu ou chronique avec la PCP*

Le modèle de traitement aigu ou chronique avec la PCP a été développé suite à l'observation d'altérations des fonctions cognitives chez les personnes saines qui consommaient du PCP ou étaient anesthésiés avec le PCP. Le fait que le PCP agit comme un antagoniste aux récepteurs glutamatergiques de type NMDA et que le système glutamatergique chez des patients atteints de schizophrénie est altéré ont donné naissance à l'hypothèse de l'hypofonctionnement du système glutamatergique de la schizophrénie (voir la **section 1.3.4**). Le modèle consiste à administrer de manière aiguë ou chronique une dose de PCP. Le traitement aigu produisant des altérations neurochimiques transitoires, il est

préférable d'utiliser un traitement chronique car il permet de mieux reproduire les symptômes de la maladie (Neill, Barnes et al. 2010). Ce modèle a permis de mettre en évidence des déficits comportementaux tels que : 1) un déficit dans le test de reconnaissance d'objet qui mesure la mémoire épisodique visuelle. Dans ce test les animaux normaux passent plus de temps à explorer le nouvel objet qu'on leur présente que celui avec lequel ils sont déjà familiers. Ce comportement est associé à une augmentation des niveaux de DA dans le CPF. Le traitement chronique avec la PCP supprime ce comportement ainsi que l'augmentation de DA dans le CPF (Grayson, Idris et al. 2007); 2) les auteurs rapportent également un déficit au niveau de l'attention notamment dans le test 5-CSRTT se traduisant par une diminution de la précision, une augmentation du nombre de réponses prématurées et du temps de réponse (voir **section 4.1.1.1.**) (Amitai, Semenova et al. 2007); 3) un déficit dans le test PPI (voir **section 4.1.1.1.**) (Mansbach and Geyer 1989); 4) un déficit d'interaction sociale (Audet, Goulet et al. 2009). Au niveau neurochimique, les études montrent une diminution de la neurotransmission basale de DA dans le CPF, une observation qui est en accord avec l'hypothèse d'une hypoactivité dopaminergique corticale dans la schizophrénie (Jentsch, Tran et al. 1997). Ces résultats comportementaux et neurochimiques sont similaires à ceux obtenus chez les patients atteints de schizophrénie donnant à ce modèle une forte validité d'aspect. Les déficits de mémoires et d'attention observés chez le patient sont mieux reproduits par ce modèle que par le modèle de sensibilisation à l'amphétamine. D'autre part, ce modèle reproduit des symptômes négatifs tels que le comportement d'isolation sociale. Ce symptôme n'est pas reproduit par le modèle de sensibilisation à l'amphétamine bien qu'il constitue un symptôme majeur des patients atteints de schizophrénie (Andreasen 1990). La validité prédictive est aussi excellente. La majorité des antipsychotiques atypiques renversent la majorité des symptômes

reproduit par le modèle ce qui n'est pas le cas des antipsychotiques typiques (pour revue, (Neill, Barnes et al. 2010)). La validité de construit est discutable car le développement de la schizophrénie suite à la consommation de substances telles le PCP, ne se généralise pas à l'ensemble des individus qui ont consommé cette substance. Malgré ces avantages le modèle PCP présente les mêmes points faibles que le modèle de sensibilisation à l'amphétamine, c'est-à-dire l'aspect neurodéveloppemental et génétique qui sont absents et une validité de construit questionnable.

#### **4.1.2 Les modèles génétiques**

Le volet génétique de la schizophrénie a été développé dans la **section 1.2**. Une multitude de gènes pouvant être un facteur de risque pour la schizophrénie ont été identifiés et ont donné naissance à plusieurs modèles d'animaux transgéniques. Plus particulièrement, les mutations du gène « Disrupted In Schizophrenia 1 » (DISC1) et du gène de la Catéchol-O-MethylTransferase (COMT, l'une des enzymes de dégradation des catécholamines) seront brièvement détaillés.

##### *4.1.2.1 Mutation du gène DISC1*

Dans les années 90, une étude portant sur la génétique d'une famille écossaise présentant une forte prévalence de maladies mentales a été étudiée et a révélé un trait génétique familial consistant en une translocation du chromosome 1 au 11 qui affectait *le gène DISC1* (St Clair, Blackwood et al. 1990). Depuis, d'autres études ont rapporté que le gène DISC1 contribuerait au risque génétique pour développer la schizophrénie (Hodgkinson, Goldman et al. 2004, Cannon, Hennah et al. 2005). Plusieurs souris mutantes pour ce gène ont

été créées permettant d'avoir un modèle animal possédant une excellente validité de construit. Nous présenterons dans les lignes qui suivent les caractéristiques associées à la mutation DISC1-L100P. Il s'agit d'une mutation faux-sens (changement d'un nucléotide dans l'exon qui produit un autre acide aminé) dans l'exon 2 du gène DISC1 (Clapcote, Lipina et al. 2007). La caractérisation du phénotype comportemental de la souris mutante a révélé plusieurs altérations qui sont présentes chez les patients atteints de schizophrénie telles que : 1) des déficits dans les tests de PPI; 2) des déficits de la mémoire de travail représentés par une faible proportion de réponses correctes lorsque le délai de choix imposé est court au sein du paradigme de labyrinthe en T. Ce paradigme propose une pastille de nourriture dans l'un des deux bras du labyrinthe et l'animal doit se rappeler celui qu'il a visité en dernier pour avoir sa prochaine récompense; 3) une hyperactivité locomotrice en réponse à la nouveauté supérieure à celle observée chez les souris sauvages; 4) une hyperactivité en réponse à l'amphétamine supérieure à celle induite chez les souris sauvages. Les souris mutantes ont également une augmentation des récepteurs dopaminergiques D2 en état de haute affinité; toutefois le taux de libération de DA dans le striatum ne diffère pas de celui des souris sauvages (Lipina, Niwa et al. 2010). Par contre aucune différence entre les animaux portant cette mutation et les souris sauvages n'a pu être détecté pour les tests mesurant : 1) l'interaction sociale; 2) la mémoire spatiale qui est testée avec le paradigme de la piscine de Morris. Ce paradigme consiste à placer la souris dans une piscine dans laquelle se trouve une plateforme non visible; celle-ci doit la retrouver pour s'y réfugier. On mesure le temps requis par l'animal pour retrouver la plateforme après plusieurs essais successifs. L'animal doit se fier aux indices présents dans l'environnement pour s'orienter; 3) l'anxiété, qui est mesurée à l'aide d'un labyrinthe surélevé (« elevated-plus maze »), composé de quatre couloirs dont deux seulement possèdent des

parois. Le niveau d'anxiété de l'animal sera déterminé par sa propension à éviter les couloirs sans parois (Clapcote, Lipina et al. 2007). Au niveau neuroanatomique, ces souris présentent une réduction de la taille globale du cerveau ainsi qu'un élargissement de la taille des ventricules latéraux (Clapcote, Lipina et al. 2007, Pletnikov, Ayhan et al. 2008). Les anomalies observées dans ce modèle sont globalement en accord avec celles observées chez les patients atteints de schizophrénie ce qui lui confère une bonne validité d'aspect. Comme mentionné précédemment, les déficits dans le test de PPI et les tests évaluant la mémoire de travail reproduisent ce que l'on observe chez le patient (Braff and Geyer 1990, Green, Nuechterlein et al. 2004). De plus, la réduction du volume cérébral, et l'élargissement des ventricules cérébraux sont des atteintes neuroanatomiques décelées chez les patients (Ahmed, Buckley et al. 2013). Cependant bien que ce modèle met en évidence une hyperactivité locomotrice en réponse à l'amphétamine, celle-ci n'est pas accompagnée d'une élévation de la libération de DA dans le striatum. Plusieurs études avec des modèles génétiques de la schizophrénie (Gainetdinov, Bohn et al. 2003, Huotari, Garcia-Horsman et al. 2004) mettent en évidence cette dernière différence entre les données obtenues avec les animaux transgéniques et celles obtenues chez l'homme (Laruelle, Abi-Dargham et al. 1996). Enfin, la validité prédictive semble être très bonne puisque certains antipsychotiques renversent ou atténuent une partie des anomalies observées (Clapcote, Lipina et al. 2007, Lipina, Niwa et al. 2010). Néanmoins, certains points faibles de ce modèle sont à considérer. Tout d'abord l'accent est mis sur un seul gène alors que la schizophrénie est fort probablement, voire certainement, une maladie multigénique et multifactorielle. Ensuite, l'aspect ontogénétique de la maladie n'est pas considéré. On ignore si les anomalies observées chez les souris transgéniques adultes sont présents ou non avant la puberté. Des études supplémentaires



devraient également être réalisées pour savoir si les traitements aux antipsychotiques sont efficaces pour l'ensemble des symptômes observés. Enfin ce modèle ne semble pas non plus prendre en considération que d'autres systèmes de neurotransmission hormis celui de la DA sont aussi altérés dans la pathologie de la schizophrénie.

#### *4.1.2.2 Le polymorphisme Val158Met du gène de la COMT*

Le polymorphisme Val158Met du gène de la COMT est également une mutation souvent retrouvée parmi les individus atteints de schizophrénie (voir **section 1.2**). Ce phénotype serait associé avec une faible performance de la mémoire de travail et un déficit de l'attention (Egan, Goldberg et al. 2001, Bruder, Keilp et al. 2005). Ainsi pour modéliser ce type de mutation chez l'animal et ainsi renforcer la validité de construit de ce modèle, des souris transgéniques ont été créées pour sur-exprimer l'enzyme COMT grâce à l'implantation du variant humain COMT-Val. Une étude rapporte que ces souris présentent des déficits au niveau : 1) de l'attention dans le test de déplacement de l'attention (« Attention set-shifting »). Ce test propose à l'animal deux bols de différentes textures/odeurs dont l'un contient une pastille de nourriture enfouie sous un contenu variable. Différentes règles sont établies pour que l'animal déterre la pastille dans le bon bol. Dans ce paradigme, les souris mutantes présentent un déficit dans la quantité de temps prise pour résoudre l'étape où ce n'est plus l'odeur ou la texture (ancien stimuli devenu non pertinent) qui détermine le bon bol mais son contenu (nouveau type de stimuli); 2) un déficit dans le test de reconnaissance d'objet qui est renversé par l'administration d'amphétamine; 3) un déficit de mémoire de travail mesuré avec le labyrinthe en T. Les animaux mettent plus de temps à acquérir la tâche. Cependant aucune différence n'a pu être observée entre les souris mutantes et les souris sauvages au niveau de

l'hyperactivité locomotrice en réponse à l'amphétamine. Ces souris COMT-Val présente une diminution de l'amplitude du réflexe de sursaut sans montrer de déficit au test de PPI par rapport aux souris normales. De plus elles vont passer plus de temps et entrer plus fréquemment dans les bras ouvert du labyrinthe surélevé attestant d'une absence d'anxiété. Enfin au niveau neurochimique, une augmentation de la tyrosine hydroxylase (TH) au niveau du CPF a été mesurée (Papaleo, Crawley et al. 2008). À l'exception de l'hyperactivité locomotrice en réponse à l'amphétamine, du test de PPI et d'anxiété, les résultats obtenus avec ce modèle sont en accord avec ce que l'on observe chez l'humain, renforçant l'idée d'une certaine validité d'aspect (voir **section 4.1.1**). Le déficit d'attention observé dans ce modèle a également été observée chez des individus (non atteint de schizophrénies) ayant une atteinte du CPF (Robbins 2007). Une étude chez l'humain corrobore ce déficit observé dans ce modèle, où une altération du CPF produit une faible performance dans ce type de test et ceci serait fortement associée au génotype COMT-Val (Egan, Goldberg et al. 2001). De plus, les résultats du test de reconnaissance d'objet miment ce qui a été montré chez les patients avec un génotype COMT-Val. Ceux-ci présente des problèmes de cognition qui peuvent être améliorés suite à l'administration d'amphétamine (Mattay, Goldberg et al. 2003). Les patients porteurs de l'allèle Val sont aussi moins performants dans des tâches qui mesurent la mémoire de travail, or un déficit de mémoire de travail est très souvent observé chez les patients atteints de schizophrénie (Egan, Goldberg et al. 2001, Mattay, Goldberg et al. 2003). Enfin, des études post-mortem rapportent également une augmentation des niveaux ARNm de la TH au sein du mésencéphale des patients avec un phénotype homozygote pour l'allèle Val (Akil, Kolachana et al. 2003). La validité prédictive ne semble pas, à notre connaissance, avoir été établie pour le moment, puisque nous n'avons trouvé aucune étude testant l'efficacité des antipsychotiques

à renverser les déficits présents avec ce modèle. Ce modèle semble être un bon modèle permettant de tester l'efficacité des inhibiteurs de la COMT comme nouvelle thérapie pharmacologique pour les déficits de cognition des patients (Kellendonk, Simpson et al. 2009). De même que pour le modèle de mutation de DISC1, ce modèle met l'accent sur un gène en particulier plutôt que sur plusieurs gènes. Aussi, certains symptômes comme le déficit de la PPI et l'hyperlocomotion en réponse à l'amphétamine sont absents dans ce modèle. Or ce sont des symptômes considérés majeurs de la schizophrénie qu'il est nécessaire de reproduire dans un modèle animal. Peut-être que cette manipulation génétique n'est pas suffisante pour provoquer une large expression des symptômes présents chez le patient atteint de schizophrénie, ce qui nous ramène à l'aspect multigénique et multifactoriel de cette maladie.

#### **4.1.3 Les modèles neurodéveloppementaux**

Comme précisé dans la **section 1.2**, l'étude de l'étiologie de la schizophrénie a dégagé plusieurs causes et/ou facteurs de risques environnementaux qui seraient à l'origine de cette maladie tels que les complications obstétriques, les infections pré-natales, le stress pré/postnatal, les dommages cérébraux et les carences nutritionnelles pour ne citer que quelques-uns. Les modèles suivants seront pris pour exemple : le modèle par injection de PolyriboInosinic:polyriboCytidilic acid (PolyI:C) qui mime une infection virale durant la gestation et le modèle par injection de MethylAzoxyMethanol acetate (MAM) qui modélise un dommage cérébral durant le développement gestationnel.

#### 4.1.3.1 *Le modèle PolyI:C*

Le modèle PolyI:C est basé sur l'hypothèse qu'une réaction immunitaire déclenche l'expression anormale de molécules inflammatoires chez la mère ou le fœtus, ce qui provoque des modifications dans le développement cérébral (pour revue, (Meyer and Feldon 2010)). Ce modèle découle de données épidémiologiques révélant un lien entre une infection virale ou bactérienne survenue lors des premiers mois de grossesse et la schizophrénie (pour revue, (Brown and Susser 2002)). L'un des modèles les plus couramment utilisé est l'infection à l'analogue synthétique de l'ARN du PolyI:C. Le PolyI:C est généralement injecté chez la femelle autour du 15<sup>ème</sup> jour de gestation. Le nombre et le temps d'injections varient selon les études et les espèces (souris : (Meyer, Feldon et al. 2005, Ozawa, Hashimoto et al. 2006); rat : (Zuckerman, Rehavi et al. 2003)). Le PolyI:C se lie aux « Toll-Like Receptors » qui, normalement, reconnaissent des agents pathogènes; il stimule donc la production et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Au niveau comportemental, les animaux adultes nés d'une mère affectée par le PolyI:C présentent par rapport aux animaux contrôles : 1) une diminution du comportement d'exploration sans altération de l'activité locomotrice basale; 2) un déficit dans le test de PPI dépendant de la quantité de PolyI:C injectée à la mère; 3) un déficit de mémoire de travail mesuré dans le test de la piscine de Morris; 4) une hyperactivité locomotrice en réponse à l'amphétamine (Meyer, Feldon et al. 2005); 5) un déficit d'interaction sociale (Smith, Li et al. 2007). Ces différents déficits comportementaux sont analogues à certains symptômes positifs et négatifs de la schizophrénie. Au niveau neurochimique et neuroanatomique, Meyer et al. (Meyer and Feldon 2009) rapportent notamment : 1) une augmentation de la TH dans le striatum; 2) une augmentation du niveau

basal de DA associée à une diminution des récepteur D1 et D2 au sein du CPF; 3) des perturbations des systèmes glutamatergiques et GABA. Toutes ces anomalies sont observées chez les patients atteints de schizophrénie (Okubo, Suhara et al. 1997, Akil, Kolachana et al. 2003) (voir aussi **section 1.2**). Aussi, les symptômes ne s'expriment pas avant l'âge adulte (Zuckerman, Rehavi et al. 2003). La validité d'aspect et la validité de construit sont excellentes. Le peu de données disponibles ne permet de commenter la validité prédictive. On note cependant que certains symptômes, notamment les symptômes cognitifs, sont renversés par la clozapine (Zuckerman and Weiner 2005, Ozawa, Hashimoto et al. 2006).

#### *4.1.3.2 Le modèle MAM*

Le modèle MAM a été développé en se basant sur un autre des facteurs de risque de la schizophrénie : un dommage cérébral au cours du développement. Des analyses post-mortem des cerveaux d'individus atteints de schizophrénie ont révélé des anomalies structurelles au niveau de l'HPC et du CPF (Harrison and Weinberger 2005). Aussi, des études épidémiologiques ont permis de faire un lien entre des événements (infections, traumatismes ou autre) se produisant au cours du second trimestre de gestation et la schizophrénie (Waddington, Lane et al. 1999). Or, cette période coïncide avec le stage embryonnaire au jour 17 (E17) chez le rongeur et il est caractérisé par une prolifération et une migration cellulaire des neurones de l'HPC et du CPF (Bayer, Altman et al. 1991). Pour reproduire un développement anormal de l'HPC et du CPF chez le rongeur, on utilise l'agent ADN méthylé MAM. Cet agent, injecté à la femelle au jour 17 de gestation, produit une interruption transitoire (4 à 24h, dépendant de la dose) de la prolifération cellulaire dans l'HPC et du CPF. Plusieurs anomalies ont été observées chez les animaux adultes ayant été traités avec le MAM,

anomalies qui ne sont pas observées chez les animaux contrôles. Au niveau comportemental, on retrouve : 1) une hyperactivité locomotrice spontanée; 2) une hyperactivité locomotrice en réponse à une injection d'amphétamine; 3) une diminution de la PPI; 4) une perturbation de la mémoire spatiale mesuré au moyen du labyrinthe en Y; 5) un déficit d'interaction sociale (Le Pen, Gourevitch et al. 2006). D'autres études rapportent des déficits cognitifs dans un labyrinthe radial à huit bras (Gourevitch, Rocher et al. 2004). Dans ce test, l'animal est libre d'explorer chacun des bras; une pastille de nourriture est placée à l'extrémité de chacun et l'animal doit optimiser sa performance en mémorisant ses visites. Des déficits sont également obtenus au niveau de la mémoire spatiale et de la reconnaissance d'objets (Flagstad, Glenthøj et al. 2005). Cependant aucun déficit d'attention n'a été mesuré avec le test 5-CSRTT (Featherstone, Rizos et al. 2007). Au niveau neuroanatomique et neurochimique, les études ont révélé une diminution de la taille de l'HPC et du CPF, ainsi qu'un élargissement des ventricules latéraux, et une augmentation de l'activité nerveuse des neurones dopaminergiques qui serait associée à une hyperactivité de l'HPC (Le Pen, Gourevitch et al. 2006, Featherstone, Rizos et al. 2007, Lodge and Grace 2007). La validité d'aspect de ce modèle est très satisfaisante malgré l'absence d'un déficit d'attention visuelle (5-CSRTT) qui est pourtant présent chez le patient atteint de schizophrénie (voir la **section 4.1**). De plus, l'aspect neurodéveloppemental que l'on retrouve dans la schizophrénie est présent puisque les anomalies décrites ci-haut n'apparaissent qu'après la puberté (Le Pen, Gourevitch et al. 2006). Le Pen et al. ont cependant observé que le déficit d'interaction sociale est déjà présent à l'adolescence, phénomène que l'on observe aussi dans d'autres modèles neurodéveloppementaux dont le modèle de lésion néonatale de l'hippocampe ventral (NVHL) (Sams-Dodd, Lipska et al. 1997). Il est prématuré de commenter la validité prédictive du

modèle vu le peu de données disponibles. Mentionnons qu'une étude a montré qu'un traitement aigu avec des antipsychotiques typiques et atypiques renverse l'hyperactivité spontanée et l'hyperactivité en réponse au MK801 (antagoniste NMDA) observées chez l'animal adulte (Le Pen, Jay et al. 2010). Une autre étude récente rapporte que l'altération de l'équilibre de la neurotransmission entre l'HPC et le PFC disparaît après un traitement avec le sulpiride (antipsychotique atypique, antagoniste des récepteurs D2) (Belujon, Patton et al. 2013). Le point faible de ce modèle est peut-être la validité de construit. En effet, bien que reproduisant les anomalies neuroanatomiques observées chez le patient atteint de schizophrénie, l'administration d'une toxine mitotique chez le fœtus n'est pas une cause observée de la schizophrénie (Lodge and Grace 2007).

#### **4.1.4 Les modèles lésionnels : emphase sur le modèle de lésion néonatale de l'hippocampe ventral (NVHL)**

Des 87 modèles animaux de la schizophrénie, seulement 4 appartiennent à cette catégorie : le modèle de lésion de l'amygdale, le modèle de lésion néonatale du cortex frontal, le modèle de lésion du cortex préfrontal et le modèle NVHL. Une analyse détaillée du modèle NVHL, que nous avons utilisé dans les études présentées dans chacun des articles de la thèse est l'objet de cette section.

Le modèle NVHL a été développé sur la base des données neuroanatomiques montrant une atteinte de l'HPC chez les patients atteints de schizophrénie (Harrison 2004). Ce modèle consiste à réaliser une lésion excitotoxique de l'HPC ventral (HPCv) chez le raton nouveau-né. Sept jours après la naissance, une injection bilatérale d'acide iboténique (agoniste non-sélectif des récepteurs glutamatergiques ionotropiques NMDA) est injectée dans l'HPCv de

chaque hémisphère cérébral (Lipska, Jaskiw et al. 1993) (détails complets de la procédure dans le **chapitre Méthodologie illustrée, section 1**). La phase de développement de l'HPC et notamment de ses projections vers le CPF se produit au 2<sup>e</sup> trimestre de la grossesse chez l'homme; ceci correspond aux jours 6-7 après la naissance chez le rongeur (Scheibel and Conrad 1993). Les conséquences de la lésion se caractérisent par un éventail d'anomalies comportementales, neurochimiques et neurophysiologiques qui sont analogues aux symptômes positifs et négatifs de la schizophrénie; la plupart apparaissent après la puberté. Selon Weinberger (Weinberger 1987), le temps séparant le moment de la lésion de l'apparition des symptômes démontre que les anomalies résultent d'un processus de maturation des structures du réseau neuronal touché et que la pathologie ne s'exprime que lorsque cette maturation a atteint son apogée. Chez l'homme, comme chez le rongeur, les symptômes de la schizophrénie apparaissent globalement au début de l'âge adulte, temps nécessaire à la complète maturation des structures corticales tel que le CPF. Il faut noter toutefois que ce ne sont pas toutes les anomalies qui émergent uniquement à l'âge adulte; certaines anomalies telles que des déficits de la mémoire spatiale ou de travail, des déficits dans l'interaction sociale et des comportements agressifs sont observés dès le début de l'adolescence chez le rongeur (pour revue, (Tseng, Chambers et al. 2009)). Ceci suggère que le modèle animal reproduit, du moins en partie, une phase prodromique. La validité d'aspect du modèle est excellente puisqu'il reproduit un grand nombre d'anomalies analogues aux symptômes de la maladie (voir **Tableau I-5**). Ainsi on observe à l'âge adulte chez les rats NVHL : 1) un déficit dans le test de PPI (Lipska, Swerdlow et al. 1995); 2) une hyperlocomotion en réponse au stress, aux agonistes dopaminergiques (apomorphine et amphétamine) et aux antagonistes glutamatergiques (MK801 et PCP) (Lipska and Weinberger 1993, Al-Amin, Weinberger et al. 2000); 3) des



déficits au niveau de la mémoire spatiale et de travail se traduisant par une faible précision du comportement dans un labyrinthe radial à huit bras. Ce dernier phénomène est observé à la fois à l'adolescence et à l'âge adulte (Chambers, Moore et al. 1996); 4) une réduction des contacts sociaux accompagnée de comportements agressifs déjà visible à l'adolescence (Sams-Dodd, Lipska et al. 1997). Au niveau neurochimique et électrophysiologique, les études ont montré : 1) des diminutions des ARNm de GAD67, l'enzyme nécessaire à la synthèse du GABA (Lipska, Lerman et al. 2003) et du niveau basal de l'ARNm du BDNF (brain derived neurotrophic factor) dans le CPF, un facteur de croissance neuronale (Ashe, Chlan-Fourney et al. 2002); 2) une diminution de l'expression des récepteurs et de l'ARNm des récepteurs dopaminergiques D2 dans les régions striatales et limbiques (Flores, Wood et al. 1996); 3) une diminution de la libération striatale de DA en réponse au stress et à l'amphétamine sans altération de la libération basale (Lillrank, Lipska et al. 1999); 4) une augmentation du taux de décharge des neurones pyramidaux du cortex et des neurones épineux du NAc en réponse à une stimulation de l'ATV (Goto and O'Donnell 2002, O'Donnell, Lewis et al. 2002). Au niveau neuroanatomique, on note : 1) des pertes et une désorganisation cellulaire au sein de l'HPCv (Lipska, Jaskiw et al. 1993) tel qu'observé chez le patient (Harrison 2004). 2) une altération de la densité des épines dendritiques des neurones pyramidaux du CPF et des neurones épineux du NAc (Flores, Alquicer et al. 2005). Cette observation fait écho aux études chez le patient montrant que une altération des fonctions cérébrales résultant d'un mauvais développement du CPF et d'une mauvaise communication entre les aires temporo-limbiques et corticales (Weinberger and Lipska 1995). Dans le modèle animal, l'étendue de la lésion de l'HPC est une variable importante. Lorsque la lésion s'étend à l'HPC dorsal (HPCd)

et au cortex entorhinal, le phénotype comportemental est atténué (Swerdlow, Halim et al. 2001); il en est de même si la lésion est trop petite (Lipska and Weinberger 1995).

<b>Altérations</b>	<b>Modèle NVHL</b>	<b>Schizophrénie</b>
<i>Comportementales</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- hyperlocomotion en réponse au stress</li> <li>- déficit PPI</li> <li>- déficit de mémoire travail et spatiale</li> <li>- déficit interaction sociale</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- vulnérabilité au stress</li> <li>- déficit PPI</li> <li>- déficit de mémoire de travail, intégration d'informations</li> <li>- retrait social</li> </ul>
<i>Pharmacologiques</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- hyperactivité induite par l'amphétamine et l'apomorphine.</li> <li>- hyperactivité induite par la PCP et le MK801</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- aggravation des symptômes en réponse aux agents dopaminergiques.</li> <li>- aggravation des symptômes en réponse à la kétamine et PCP.</li> </ul>
<i>Moléculaires</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- diminution des niveaux de GAD67</li> <li>- diminution des niveaux de BDNF</li> <li>- altération de la neurotransmission DA/Glu/GABA</li> <li>- altération des fonctions corticales et sous-corticales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- diminution des niveaux de GAD67</li> <li>- diminution des niveaux de BDNF</li> <li>- altération de la neurotransmission DA/Glu/GABA</li> <li>- hypothèse d'hypoactivité corticale liée à hyperactivité sous-corticale</li> </ul>
<i>Anatomiques</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- perte cellulaire HPCv et élargissement ventricule.</li> <li>- altération de la densité des épines dendritiques des neurones du CPF et du NAc</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- altération du volume et de la structure de l'HPC</li> <li>- développement altéré du CPF suite à des déconnexions sous-corticales</li> </ul>

**Tableau I-6:** Analogie entre les anomalies observées dans le modèle NVHL et les symptômes de la schizophrénie.

*Abréviations :* BDNF : brain derived neurotrophic factor (facteur de croissance), CPF : cortex préfrontal, DA : dopamine, GAD67 : enzyme de synthèse du GABA, Glu : glutamate, GABA : gamma-aminobutyric acid, HPCv : hippocampe ventral, MK801 : dizocilpine, antagoniste des récepteurs glutamatergiques NMDA, PCP : phencyclidine, antagoniste des récepteurs glutamatergiques NMDA. Adapté de (Lipska and Weinberger 2000, Tseng, Chambers et al. 2009).

La validité prédictive de ce modèle est également très bonne puisque le traitement aux antipsychotiques renversent la plupart des anomalies comportementales et physiologiques. À titre d'exemple, chez le rat NVHL : 1) le déficit dans le test PPI est renversé par l'administration de plusieurs antipsychotiques atypiques mais pas par l'halopéridol (antipsychotique typique) (Le Pen and Moreau 2002); 2) l'hyperactivité locomotrice spontanée est réduite suite aux traitements chroniques avec la clozapine et l'halopéridol (Lipska and Weinberger 1994); 3) l'augmentation de la décharge des neurones du NAc en réponse à la stimulation de l'ATV est supprimée par un traitement chronique à l'halopéridol (Goto and O'Donnell 2002).

La validité de construit est une certaine faiblesse du modèle puisqu'aucune lésion de ce type n'a été observée chez les patients atteints de schizophrénie (Lipska and Weinberger 2000). De plus l'étendue de la lésion varie d'un animal à l'autre et les critères de sélection demeurent peu précis; il faut que la lésion soit bilatérale et elle ne doit pas s'étendre à l'HPCd ni aux structures corticales adjacentes. Il est également important de préserver une certaine intégrité fonctionnelle de l'HPCv (Swerdlow, Halim et al. 2001). Une étude utilisant un protocole d'imagerie par résonance magnétique (IRM) chez le rat NVHL a corroboré les observations de Swerdlow et al.; elle a aussi révélé que l'étendue de la lésion ne varie guère de l'adolescence à l'âge adulte (Bertrand, Langlois et al. 2010). L'utilisation de cette technique d'imagerie permettrait de mesurer l'étendue de la lésion dès l'adolescence ce qui se traduirait par une économie de temps, de logement des animaux et de matériel; cependant le coût d'utilisation de cette technique risque d'annuler cette économie.

Bien que ce modèle soit classé en tant que modèle lésionnel, il possède un aspect neurodéveloppemental puisque la symptomatologie n'apparaît qu'au début de l'âge adulte. En général, la classification « neurodéveloppemental » fait référence à une atteinte du développement de l'organisme au cours de la période prénatale. Or dans le cas du modèle NVHL cette atteinte se produit durant la période néonatale. Ceci pourrait expliquer pourquoi le modèle NVHL n'est pas classé dans les modèles neurodéveloppementaux. Une recension de la littérature montre que le modèle est qualifié soit neurodéveloppemental soit lésionnel.

Dans cette section, nous avons présenté un aperçu des modèles animaux de la schizophrénie ainsi que leurs forces et faiblesses (voir également **Tableau I-5** au début de la **section 4.1 de l'Introduction**). Puisque le modèle NVHL est celui qui possède la meilleure validité d'aspect, validité prédictive et validité de construit, et qu'un grand nombre d'études ayant pour objectif de mieux comprendre les aspects neurobiologiques qui sous-tendent la comorbidité schizophrénie et abus des drogues ont utilisé ce modèle (voir **section 4.2**), nous l'avons donc choisi pour réaliser les études décrites dans cette thèse.

## ***4.2 Modèles animaux de la schizophrénie et système de récompense***

Le modèle animal de la sensibilisation à l'amphétamine a été le plus utilisé pour évaluer l'état du système de récompense dans un modèle animal de la schizophrénie. Selon Robinson et Berridge (Robinson and Berridge 1993) une exposition répétée à l'amphétamine entraîne des changements neuroadaptatifs qui conduisent à un état d'hypersensibilité du système neuronal impliqué dans l'attribution de la saillance émotionnelle des stimuli. Ces neuroadaptations expliqueraient l'usage compulsif de drogues et la tendance à la rechute chez

le toxicomane. Il est à noter que l'ensemble des études qui seront présentées dans cette section sont des études réalisées dans le but de mieux comprendre l'addiction et non la schizophrénie. Même si ce modèle de sensibilisation à l'amphétamine a une validité de construit faible (voir **section 4.1.1.1**) ces résultats n'en restent pas moins extrapolables à la modélisation de la schizophrénie car ces deux phénomènes sont étroitement liés. Ainsi, les études rapportent, en plus d'une sensibilisation aux effets psychomoteurs (voir la **section 4.1.1.1**), une augmentation de la motivation pour les drogues, tels que l'amphétamine et la cocaïne. On notera que ces animaux présentent : 1) une plus grande motivation à consommer les drogues mesurée au moyen du paradigme d'AAIV et du rapport progressif (Mendrek, Blaha et al. 1998, Lorrain, Arnold et al. 2000); 2) une plus forte sensibilité aux effets renforçants des drogues mesurée avec le paradigme de PPC (Lett 1989, Nocjar and Panksepp 2002); 3) une sensibilisation à l'effet de récompense de la morphine mesurée avec le PPC (Lett 1989); 4) une plus forte sensibilisation aux effets renforçants et motivationnels des récompenses naturelles telles que la nourriture (Nocjar and Panksepp 2002, Mendez, Williams et al. 2009), l'eau (Taylor and Jentsch 2001) et un partenaire sexuellement réceptif (Nocjar and Panksepp 2002). Ces études indiquent également que les animaux pré-exposés à l'amphétamine acquièrent plus rapidement les comportements Pavlovien et un conditionnement opérant (Taylor and Jentsch 2001, Mendez, Williams et al. 2009). Ils consomment aussi plus de nourriture que les animaux naïfs dans des conditions de satiété (Mendez, Williams et al. 2009). L'ensemble de ces résultats indiquent que le modèle de sensibilisation à l'amphétamine est caractérisé par une altération du système de récompense. À notre connaissance, aucune étude n'a évalué l'état du système de récompense dans le modèle de sensibilisation à la PCP.

Il y a peu d'étude consacré à la récompense avec les modèles génétiques. Une seule étude (Pogorelov, Nomura et al. 2012) avec le modèle DISC1 rapporte un déficit d'expression d'une PPC induite par la metamphétamine chez les souris mutantes femelles, un déficit mis en évidence seulement à faible dose.

Les études de la récompense chez des modèles neurodéveloppementaux sont plus nombreuses. Par exemple dans le modèle PolyI:C les animaux infectés sont plus sensibles à la rechute de la PPC à l'amphétamine que les animaux contrôles. De plus, ils présentent une réponse de PPC à l'amphétamine plus intense (Richtand, Ahlbrand et al. 2012). Dans le modèle MAM, il existe peu de données sur les effets de récompenses des drogues. Une étude a montré que le modèle n'engendre aucune anomalie dans le maintien, l'extinction et la rechute du comportement d'AAIV de cocaïne (Featherstone, Burton et al. 2009).

Enfin, dans le cas des modèles lésionnels et plus particulièrement du modèle NVHL que nous avons utilisé dans nos études, seuls les psychostimulants, la nicotine et l'éthanol ont été investigués. Concernant les psychostimulants, les rats NVHL présentent une acquisition plus rapide du comportement d'auto-administration intraveineuse (AAIV) de methamphétamine, ainsi qu'une motivation plus grande à l'obtention de cette drogue que les rats contrôles (Brady, McCallum et al. 2008). Les rats NVHL sont plus résistants à l'extinction de l'AAIV de cocaïne et ils répondent plus fortement dans un protocole de recherche de cocaïne induit par un stimulus conditionné que les animaux contrôles (Karlsson, Kircher et al. 2013). Ces résultats suggèrent donc que les rats NVHL sont plus sensibles à l'effet de récompense de la cocaïne. Mais dans le cas de l'amphétamine cela semble être le contraire. En effet, LePen et al. (Le Pen, Gaudet et al. 2002) ont rapporté que l'amphétamine n'induit pas de

PPC chez les rats NVHL à une dose qui induit un PPC chez les animaux contrôles. Il est important de souligner que le PPC et l'AAIV mesurent des aspects différents de la récompense (voir **section 3.2**) Une seule équipe a étudié les effets renforçants de la nicotine avec ce modèle animal de la schizophrénie. Ils ont observé une augmentation de la sensibilisation comportementale à la nicotine à court et long terme (Berg and Chambers 2008). Plus récemment, ils ont également mesuré, chez les rats NVHL, une augmentation de l'AAIV, du temps d'acquisition, de la consommation totale, et de la recherche de nicotine comparé aux rats contrôles (Berg, Sentir et al. 2013). Dans le cas de l'alcool, on a noté que de faibles doses d'éthanol stimulent l'activité locomotrice des rats NVHL et non celles des rats contrôles tandis que de fortes doses diminuent cette activité. Les rats NVHL développent une plus forte sensibilisation à l'éthanol que les rats contrôles (Conroy, Rodd et al. 2007). Quelques années plus tard, l'équipe de Berg a montré que les rats NVHL consommaient plus d'éthanol que les rats contrôles mais seulement lorsque l'éthanol était mélangé à une solution de sucrose (Berg, Czachowski et al. 2011). Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que les rats NVHL sont plus sensibles aux drogues d'abus que les rats contrôles. Dans la mesure où ce modèle possède une certaine validité comme modèle de la schizophrénie, il permet d'émettre l'hypothèse que les patients atteints de schizophrénie sont plus sensibles aux effets de récompense de ces drogues.

### ***4.3 Impacts des cannabinoïdes sur les modèles animaux de la schizophrénie***

Nous avons vu à la **section 3.2** que les cannabinoïdes altèrent le système de récompense chez les animaux normaux. Qu'en est-il des animaux dans un modèle animal de schizophrénie ? Les seules études réalisées à ce jour ont évalué les aspects psychomoteurs, cognitifs et sociaux (pour revue (Arnold, Boucher et al. 2012)). À titre d'exemple, nous

pouvons mentionner que : 1) l'exposition répétée au THC augmente l'hyperlocomotion induite par l'amphétamine chez des animaux pré-exposés à l'amphétamine (Gorriti, Rodriguez de Fonseca et al. 1999); 2) dans le modèle animal de sensibilisation au MK801 (antagoniste aux récepteurs glutamatergiques NMDA, comme la PCP), une injection aigüe de WIN augmente les déficits de mémoire à court terme induits par le MK801 (Goonawardena, Robinson et al. 2010) : 3) dans le modèle de stress néonatal le déficit de PPI est accentué par une injection de THC (Malone and Taylor 2006); 4) Les déficits cognitifs mesurés chez des animaux traités chroniquement avec le PCP sont accentués par un traitement chronique avec le THC (Vigano, Guidali et al. 2009). Par contre, l'AAIV de WIN diminue les déficits cognitifs, sociaux et de PPI de ces animaux (Spano, Fadda et al. 2010); 5) enfin, les animaux qui ont subi une lésion néonatale du CPF et qui ont été traités chroniquement avec le WIN durant l'adolescence, présentent une suppression du comportement social (jeux et interaction) et du comportement de toilettage à la fois à l'adolescence et à l'âge adulte (Schneider and Koch 2005). De manière surprenante aucune étude n'a été réalisée à ce jour sur les effets motivationnels des cannabinoïdes dans un modèle animal de la schizophrénie. Étonnamment, Spano et al. ont rapporté récemment les bénéfices de l'AAIV de WIN sur les symptômes comportementaux et émotionnels induits par la PCP mais ils n'ont pas analysé les effets du modèle animal de schizophrénie induit par la PCP sur l'AAIV de WIN en tant que tel (Spano, Fattore et al. 2013). Sachant qu'il existe des études qui ont rapporté l'impact motivationnel de drogues telles que les psychostimulants, l'alcool, la nicotine et la morphine dans divers modèles animaux de la schizophrénie (**section 4.2**), l'absence de l'évaluation de l'impact motivationnel des cannabinoïdes dans ces modèles n'en est que plus apparente.



# OBJECTIF DE L'ÉTUDE

---

Cette étude a été conduite dans le but d'évaluer la valence motivationnelle des cannabinoïdes dans un modèle neurodéveloppemental de la schizophrénie. Ce choix a été motivé par deux faits majeurs : 1) le cannabis est la drogue illégale la plus consommée parmi les patients atteints de schizophrénie et il n'existe peu ou pas d'explications adéquates à ce phénomène; 2) il n'existe aucune étude pré-clinique ayant abordé la problématique de la comorbidité entre l'abus du cannabis et la schizophrénie. Afin d'apporter les premiers éléments de réponse à ces questionnements, nous avons réalisé une série d'expériences avec le modèle animal de la schizophrénie de Lipska et Weinberger : le modèle NVHL. Nous avons choisis les molécules de THC et de WIN pour évaluer l'impact motivationnel des cannabinoïdes dans ce modèle.

Dans ce contexte et sachant que les cannabinoïdes peuvent induire soit un effet de récompense soit un effet aversif (**section 3.2**), il est difficile d'émettre une ou des hypothèses précises. Néanmoins, nous proposons que si le modèle NVHL induit une altération de la sensibilité à l'effet motivationnel des cannabinoïdes, deux hypothèses sont envisageables :

1. Les rats NVHL seront plus sensibles à l'effet de récompense induit par les cannabinoïdes que les rats contrôles.
2. Les rats NVHL seront moins sensibles à l'effet aversif des cannabinoïdes que les rats contrôles.

La première étude dont les résultats sont rapportés dans le premier article visait à : 1) confirmer que la procédure expérimentale que nous avons utilisée permettait de reproduire des

signes distinctifs du modèle de Lipska et Weinberger; 2) comparer l'effet de l'agoniste CB1/CB2, le WIN sur la locomotion spontanée des rats shams et NVHL; 3) étudier l'impact motivationnel du WIN et du THC chez les rats shams et NVHL au moyen du paradigme comportemental de la PPC.

La seconde étude dont les résultats sont rapportés dans le deuxième article visait à : 1) étudier l'impact motivationnel de l'amphétamine, du THC et du WIN chez les rats shams et NVHL au moyen du paradigme de l'ASI et 2) déterminer si l'effet du WIN était dû à son action agoniste aux récepteurs CB1.

Les chapitres suivants exposeront l'originalité de ce projet en présentant l'ensemble des données obtenues.

# MÉTHODOLOGIE ILLUSTRÉE

---

## 1. Modèle NVHL

### 1.1 Chirurgie néonatale

Afin de produire une lésion excitotoxique, une solution contenant de l'acide iboténique est injectée directement dans le cerveau au niveau de la structure cible. L'acide iboténique est une molécule agoniste aux récepteurs glutamatergiques NMDA extraite d'un champignon nommé Amanite tue-mouche (*Amanita muscaria*). Lorsque cette molécule se fixe sur les récepteurs NMDA (canaux ioniques), elle provoque l'ouverture des canaux entraînant une entrée d'ions calciques et sodiques dans le neurone. L'ouverture prolongée des canaux résultent en une accumulation des ions et au déclenchement de cascades neurochimiques qui entraînent la mort cellulaire. (cf. Livre « Natural and synthetic neurotoxins » édité par Alan E. Harvey, *Academic Press*, 1993, ISBN 0-12-329870-9).

L'injection d'acide iboténique dans l'HPCv se fait chez l'animal anesthésié au moyen de la chirurgie stéréotaxique. Elle est pratiquée 6 à 7 jours après la naissance (« Post-natal Day », PD6-7) sur des rats pesant entre 15 et 18g. Lorsqu'ils ont développé le modèle, Lipska et Weinberger (Lipska, Jaskiw et al. 1993) ont utilisé une concentration d'acide iboténique de 10 µg/µl et ils ont injecté un volume de 0.3 µl/hémisphère. Cette concentration a été utilisée dans toutes les études publiées jusqu'à maintenant. Nous l'avons donc utilisée initialement dans notre laboratoire. Cependant nous avons constaté que les lésions étaient trop étendues (voir **Introduction, section 4.1.4**) et nous avons soupçonné que cela était dû au fait que nous utilisions une méthode d'anesthésie par inhalation d'isoflurane plutôt que par hypothermie comme dans les autres études. Ceci était fort probablement attribuable au fait que

l'hypothermie a un effet neuroprotecteur. Puisque l'utilisation d'une méthode d'hypothermie chez les rats âgés de 6 à 7 jours n'était pas acceptable pour le comité de déontologie animale, il fut donc nécessaire de procéder à une étude pilote afin de déterminer la concentration d'acide iboténique requise pour léser de façon sélective l'HPCv et obtenir des lésions similaires à celles décrites par Lipska et Weinberger. La concentration d'acide iboténique fut réduite de moitié. La méthodologie appliquée fût donc la suivante :

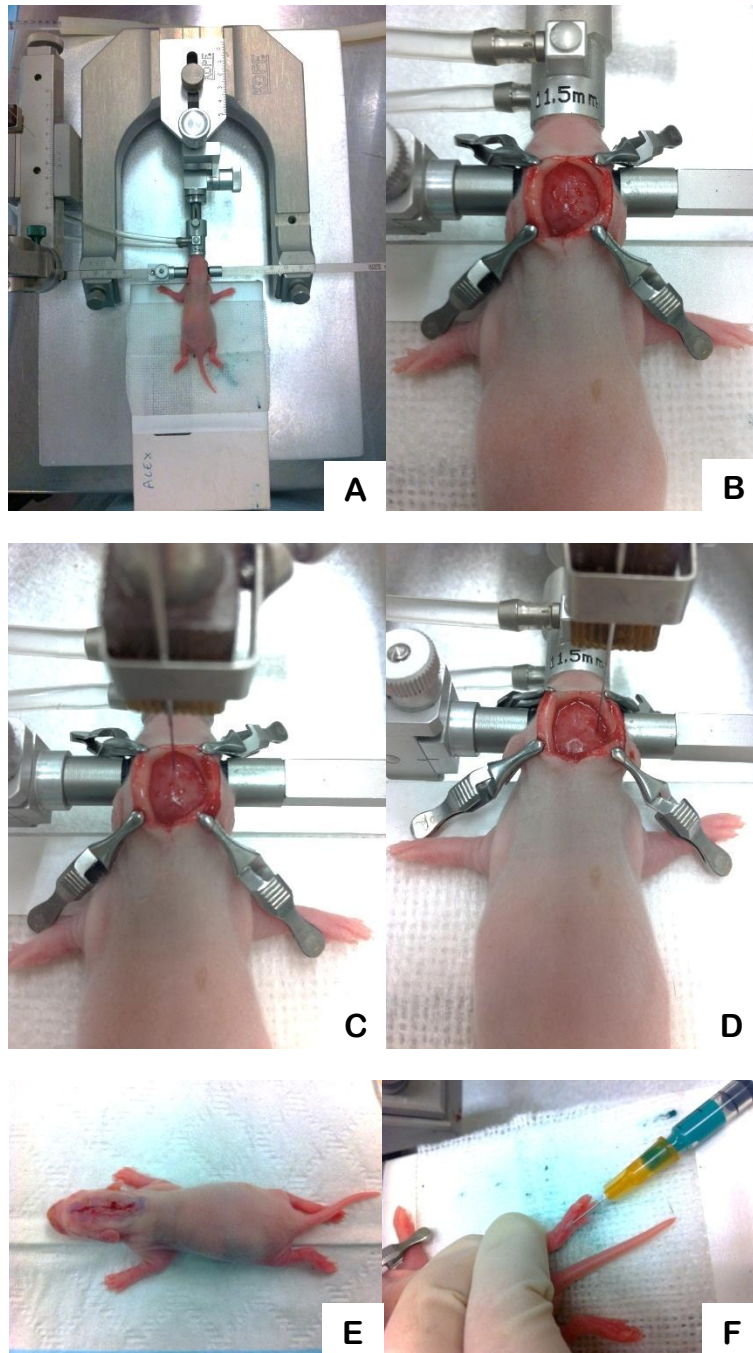
- Poids/Âge : 15-18 g, PD6-7
- Coordonnées stéréotaxiques : AP -3 mm/ML  $\pm$ 3.5 mm/DV -5 mm
- Dose acide iboténique : 5  $\mu$ g/ $\mu$ l
- Volume d'injection : 0.3  $\mu$ l/hémisphère injecté sur 2 min + 1 min de diffusion
- Anesthésie : *Induction* : 5 % isoflurane pour un débit d'O<sub>2</sub> de 0.8 L/min pendant 5 min. *Maintien* : 0.5-2 % d'isoflurane pour un débit d'O<sub>2</sub> de 1-2 L/min suivant la réaction du raton.
- Temps de chirurgie : 15 min
- Temps de réveil : 5 min

La **Figure II-1** indique les différentes étapes de la chirurgie. Après l'installation de l'animal sur l'appareil stéréotaxique adapté pour le raton (**Figure II-1A**), nous réalisons une petite incision du scalp qui sera maintenue ouverte à l'aide de pinces (**Figure II-1B**). Le calcul des coordonnées pour l'insertion de la canule d'injection se fait à partir du point de référence Bregma (**Figure II-1C**). Une fois ces coordonnées déterminées, nous positionnons la canule d'injection au niveau du site d'insertion afin de l'indiquer d'une marque (**Figure II-1D**); un trou est percé dans l'os crânien au point de repère à l'aide d'une perceuse chirurgicale adaptée.

Une fois l'ouverture réalisée, nous insérons la canule à la coordonnée correspondante et nous déclenchons l'injection d'acide iboténique (**Figure II-1D**). La même procédure est appliquée aux deux hémisphères. Une fois les injections complétées, le raton est enlevé de l'appareil stéréotaxique, et l'incision est refermée grâce à de la colle chirurgicale (**Figure II-1E**). Pour la phase de réveil, les rats sont placés sur une couverture chauffante. Ils sont rendus à leur mère lorsqu'ils sont éveillés et capables de se déplacer normalement. Chacune des étapes décrites pour la chirurgie sur les rats NVHL est appliquée aux rats du groupe contrôle (sham) à l'exception que la canule d'injection n'est pas insérée dans le cerveau; ceci permet d'éviter tout dommage au tissu hippocampal et de contrôler pour le stress résultant de l'anesthésie, la chirurgie et la séparation avec la mère. Il est important de souligner que dans les études cliniques, les résultats obtenus avec les patients atteints de schizophrénie sont comparés à ceux obtenus chez des sujets sains. Ainsi, ce type de groupe contrôle vient renforcer la validité d'aspect du modèle animal. Afin de pouvoir distinguer nos rats NVHL de nos rats shams, nous réalisons un marquage à la pâte de tatouage sur la patte arrière droite du rat sham (**Figure II-1F**).

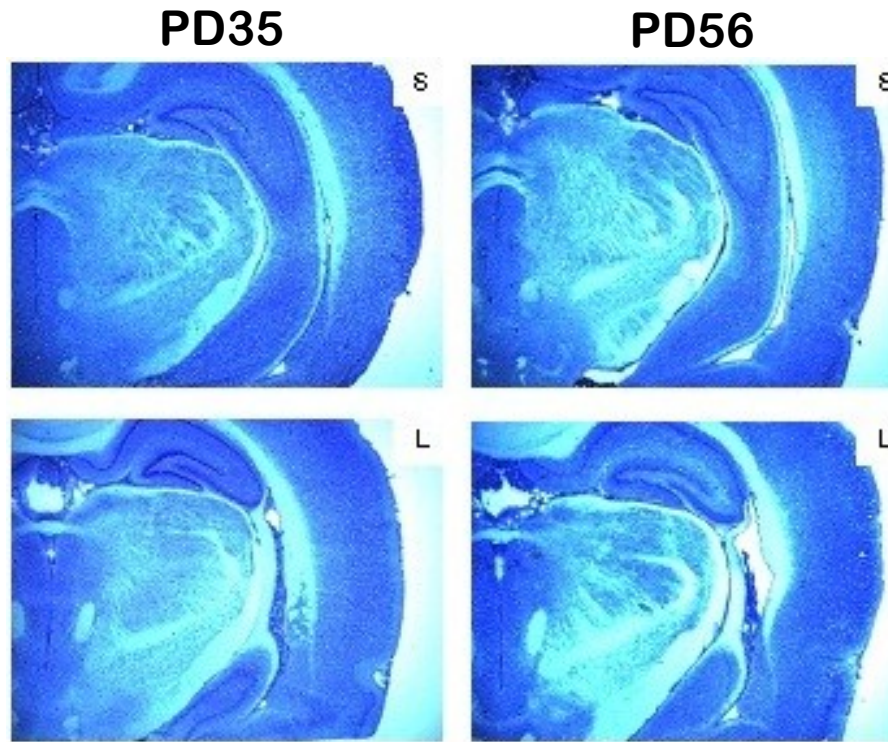
## **1.2 Histologie**

A la fin des expériences, les animaux sont anesthésiés, décapités et leur cerveau prélevé pour des fins d'analyse histologique. Les cerveaux ont été immergés dans le 2-méthylbutane (99.2 %) et stocké à -80 °C. Ils furent ensuite tranchés au cryostat en coupe d'une épaisseur de 40 µm puis colorés au moyen de la technique de Nissl. L'étendue des lésions a été déterminée par deux investigateurs à l'aveugle au moyen de la microscopie optique. L'ensemble des études réalisées avec ce modèle ne définit pas avec précision les critères d'une lésion de l'HPCv. La seule indication est qu'il est impératif que les structures cérébrales proches de l'HPCv soient intactes. Celles-ci comprennent : l'HPCd, le cortex entorhinal et le gyrus denté (Swerdlow, Halim et al. 2001). Ainsi, sont exclus de nos analyses les rats présentant : 1) aucune lésion; 2) une lésion unilatérale; 3) une lésion asymétrique (ventral d'un côté et dorsal de l'autre); 4) une déformation significative de l'HPCd; 5) une complète disparition de l'HPCv; 6) une lésion médiane sans atteinte de l'HPCv. Pour les rats inclus dans les analyses, les lésions s'étendaient entre les niveaux antéropostérieurs correspondant à environ 4.1 et 5.8 mm postérieur au bregma. Des coupes colorées provenant de deux rats shams et deux rats NVHL, 2 adolescents et 2 adultes, sont présentées à la **Figure II-2**.



**Figure II-1:** Description de la procédure chirurgicale NVHL.

(A) Installation du raton sur l'appareil de stéréotaxie. (B) Incision de la peau recouvrant la surface du crâne. (C) Détermination du site d'injection au moyen des coordonnées stéréotaxiques. (D) Trépanation du crâne au point d'insertion et descente de la canule au site d'injection. (E) Fermeture de l'incision avec colle chirurgicale. (F) Tatouage d'identification pour les rats shams.



**Figure II-2 :** *Illustration des tranches de cerveau colorées au moyen de la technique de Nissl.*

Ces coupes indiquent l'état de l'HPC chez des rats shams (S) et NVHL (L) à 35 et 56 jours après la naissance (PD35 et PD56 respectivement). La lésion est apparente et similaire aux deux âges et est principalement concentrée au niveau médian et ventral de l'HPC. On notera une absence d'atteinte de l'HPCd, un amincissement de la fimbria de l'HPC, un élargissement des ventricules latéraux ainsi qu'une diminution significative du marquage de l'HPCv.



## 2. Mesures comportementales

### 2.1 *Activité locomotrice*

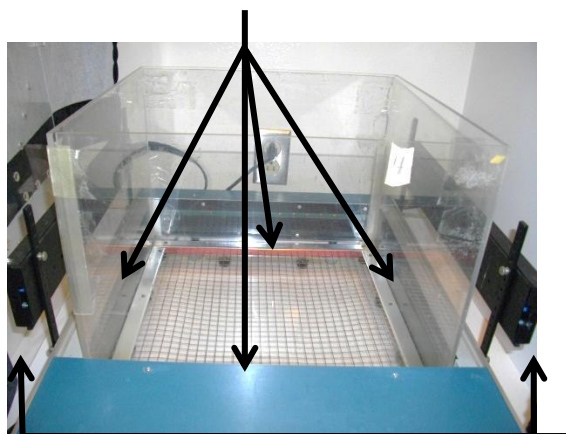
L'appareil de mesure de l'activité locomotrice est composé de huit enceintes (43 x 43 x 33 cm) constituées de murs en Plexiglass et d'un plancher grillagé. Chacune comprend deux bandes de 15 cellules photo-électriques situées à 1.5 et 14.5 cm au-dessus du plancher permettant de détecter les mouvements horizontaux et verticaux respectivement (**Figure II-3A**). La hauteur de la bande des cellules photo-électriques permettant de détecter les mouvements verticaux a été ajustée pour les études avec les rats adolescents (PD35). Les signaux générés par les cellules photo-électriques sont analysés par un logiciel (OptoVarimax, Columbus Instr, USA). Le logiciel détermine les mouvements détectés à l'intérieur, et au-delà, d'une boîte virtuelle tracée autour de l'animal (9.6 x 9.6 cm); la position de l'animal est déterminée à toutes les 100 msec. Ce système permet de quantifier trois types de mouvements : 1) *ambulatoires* : des déplacements au-delà de la boîte virtuelle; 2) *non-ambulatoires* : des mouvements détectés à l'intérieur de la boîte virtuelle et 3) *verticaux* : des redressements. La distance (en mètre) que l'animal parcourt au-delà de la boîte virtuelle représente les mouvements ambulatoires. Le temps de détection en seconde des mouvements à l'intérieur de la boîte virtuelle représente les non-ambulatoires et enfin le nombre d'activation des cellules photo-électriques de la bande en hauteur par les redressements représente l'activité verticale.

Deux expériences ont été réalisées. Une première expérience avait pour objectif de déterminer si les rats NVHL présentent une plus grande activité locomotrice que les rats shams lorsqu'ils sont exposés à : 1) un nouvel environnement; 2) un stress léger; 3) et s'ils présentent une hypersensibilité à l'effet locomoteur de l'amphétamine. Ces anomalies sont typiques du modèle de Lipska et Weinberger, elles sont présentes à l'âge adulte mais pas à l'adolescence. (Lipska and Weinberger 1993) Deux doses d'amphétamine ont été étudiées et les tests ont été réalisés avec des rats adolescents et des rats adultes (**voir le schéma de la Figure II-3B, détails article 1**).

Une seconde expérience avait pour objectif de tester l'effet d'une dose de 1 mg/kg de WIN, un agoniste CB1/CB2, sur l'activité locomotrice des rats shams et NVHL; les tests ont été réalisés à l'adolescence et à l'âge adulte. Les détails de la procédure expérimentale pour les deux expériences sont présentés dans **l'article 1**.

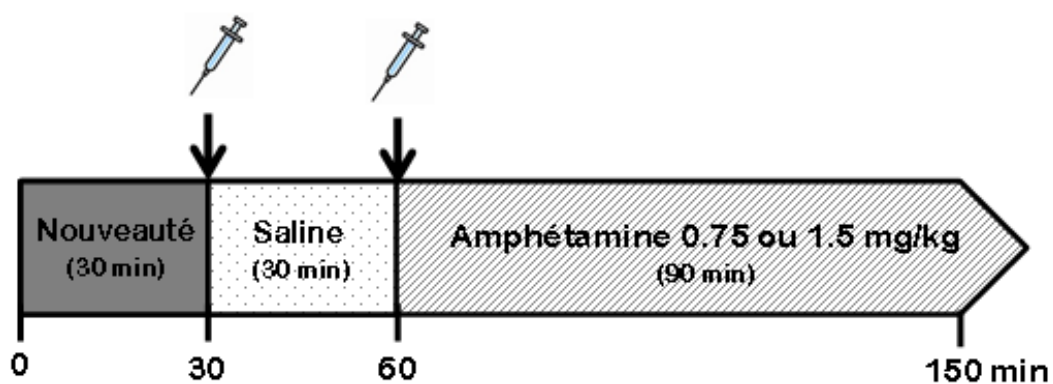
**A**

Cellules photo-électriques pour la mesure des mouvements horizontaux et non-ambulatoires.



Cellules photo-électriques pour la mesure des mouvements verticaux

**B**



**Figure II-3 :** *Test de l'activité locomotrice.*

(A) Cage de test. (B) Schéma de la procédure : test de locomotion en réponse à la nouveauté (30 min), suivi du test de locomotion en réponse au stress léger (injection i.p.de saline, 30 min), suivi du test de locomotion en réponse à une injection d'amphétamine (90 min).

## **2.2 Préférence de place conditionnée (PPC)**

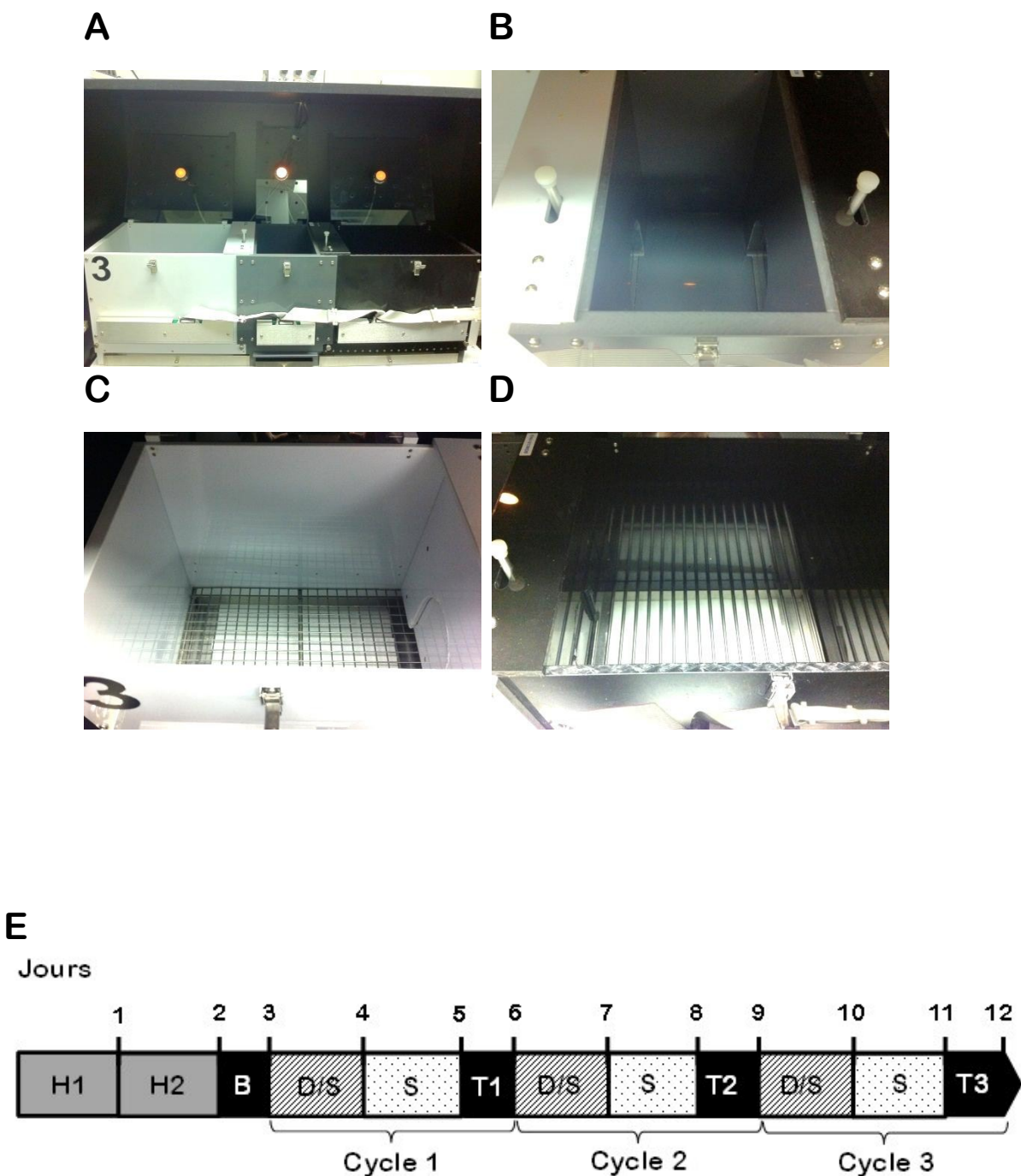
Cette procédure de conditionnement Pavlovien permet d'évaluer les effets renforçants ou aversifs d'une drogue (**voir Introduction, section 3.2.4**). Nous avons utilisé l'appareil fabriqué par la compagnie Med Associates Inc. (modèle : MED-CPP-013). Chaque appareil comprend 3 compartiments distinctifs : deux compartiments de conditionnement (27 x 22 x 26 cm, chacun) et un compartiment neutre (14 x 22 x 26 cm) (**Figure II-4A**). Ces compartiments diffèrent par leur couleur et texture du plancher; il y a un compartiment neutre gris composé d'un revêtement de Plexiglass (**Figure II-4B**), un compartiment blanc composé d'un sol grillagé avec des murs peints en blancs (**Figure II-4C**) et un compartiment noir munis d'un sol en barres d'aciers inoxydables arrondies avec des murs peints en noirs (**Figure II-4D**). Les rongeurs étant des proies nocturnes, ils se sentent plus en sécurité dans des espaces sombres et confinés. Aussi pour éviter que les animaux passent trop de temps dans le compartiment neutre, la luminosité y est plus élevée.

Une première expérience avait pour objectif de déterminer si le THC induit un effet de préférence ou d'aversion et si cet effet diffère en fonction de l'âge et entre les rats NVHL et les rats shams. Pour ce faire différents groupes d'animaux ont été conditionnés avec une dose de 0.5 mg/kg de THC dans le compartiment dit « préféré » et avec le solvant dans le compartiment dit « non-préféré ».

Une seconde expérience avait pour objectif de déterminer si le WIN induit un effet de préférence ou d'aversion et si cet effet diffère en fonction de l'âge et entre les rats NVHL et les rats shams. Pour ce faire différents groupes d'animaux ont été conditionnés avec une dose

de 1 mg/kg de WIN dans le compartiment dit « préféré » et avec le solvant dans le compartiment dit « non-préféré ».

Chacun des tests de PPC s'étend sur 12 jours consécutifs (**Figure II-4E**). Il y a d'abord une phase d'habituation, jours 1 et 2 (H1 et H2), suivi d'un test de préférence de base (B), jour 3 puis 3 cycles de conditionnement incluant un test de préférence à chacun des cycles. Ces cycles de conditionnement consistent en : un jour d'exposition à la drogue (ou au solvant pour les animaux shams, D/S), un jour d'exposition au solvant (S) et un jour de test de préférence (T1, T2, T3). Pour déterminer le caractère renforçant ou aversif du WIN et du THC, on soustrait la valeur de temps passé dans le compartiment associé à la drogue au jour de test (T1, T2, T3) à la valeur de temps passé dans ce compartiment au test de base (B). Une valeur positive indique une préférence alors qu'une valeur négative indique une aversion.

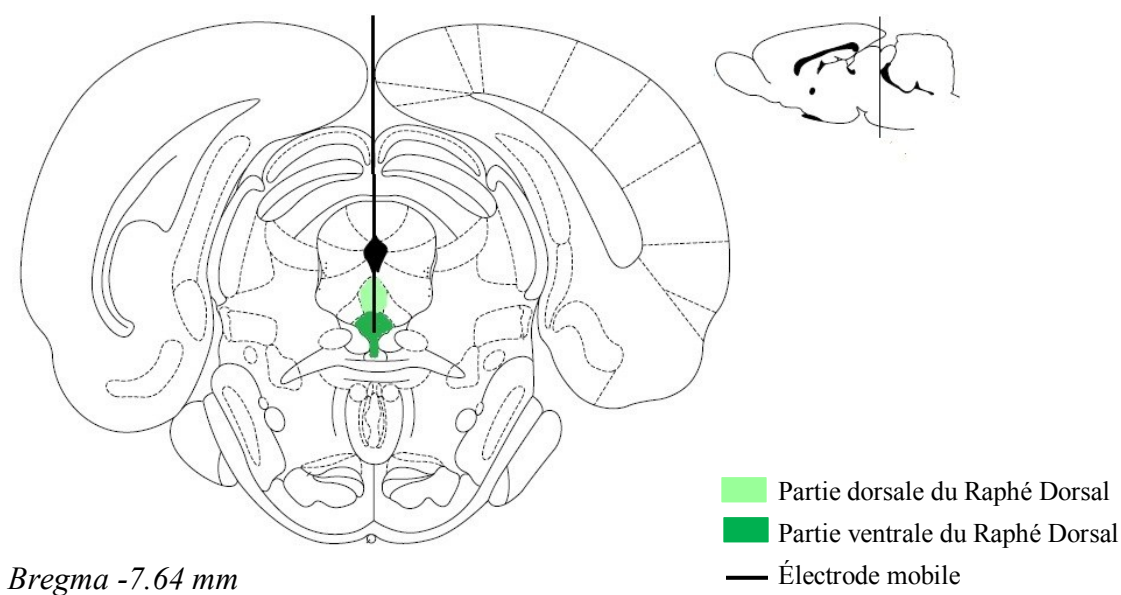


**Figure II-4 :** *Test de préférence de place conditionnée (PPC).*

(A) Appareil de PPC à 3 compartiments. (B) Compartiment neutre. (C) Compartiment de conditionnement blanc. (D) Compartiment de conditionnement noir. (E) Schéma illustrant les tests successifs de la procédure de PPC. *Abréviations :* H1/H2 : Habituation 1 et 2, B : Baseline, D/S : jour de conditionnement drogue (ou solvant pour animaux contrôles), S : jour de conditionnement solvant, T1/T2/T3 : jour de test de préférence 1/2/3.

### 3. Autostimulation intracérébrale (ASI)

Le test d'ASI est réalisé chez des animaux porteurs d'une électrode de stimulation dans le mésencéphale postéro-médian (coordonnées : 7.6 mm postérieur au bregma, 0 mm en latéral et 6.6 mm en dessous de la surface du crâne, voir **Figure II-5**). L'électrode qui est constituée d'un fil d'acier isolé électriquement avec de l'Epoxy (à l'exception de la pointe), est implantée au moyen de la chirurgie stéréotaxique chez l'animal anesthésié selon une procédure similaire à celle décrite précédemment pour les lésions (voir **article 2** pour plus de détails). Des études précédentes ont montré que la stimulation électrique du mésencéphale postéro-médian produit un puissant effet de récompense et qu'il est facile d'entraîner les animaux à produire une réponse opérante pour recevoir la stimulation électrique (Rompre and Miliaressis 1985). Ce test comprend deux phases, une phase d'entraînement/stabilisation du comportement d'ASI et une phase de test.



**Figure II- 5:** Coordonnées stéréotaxiques d'implantation de l'électrode mobile dans le mésencéphale postéro-médian.

L'électrode mobile est implantée dans la partie ventrale du Raphé Dorsal (Bregma -7.64 mm) à -6.6 mm en dessous de la surface du crâne et à 0 mm par rapport à la ligne sagittale (**figure principal, coupe coronale**). La figure réduite en haut à droite donne une représentation sagittale du positionnement de l'électrode.

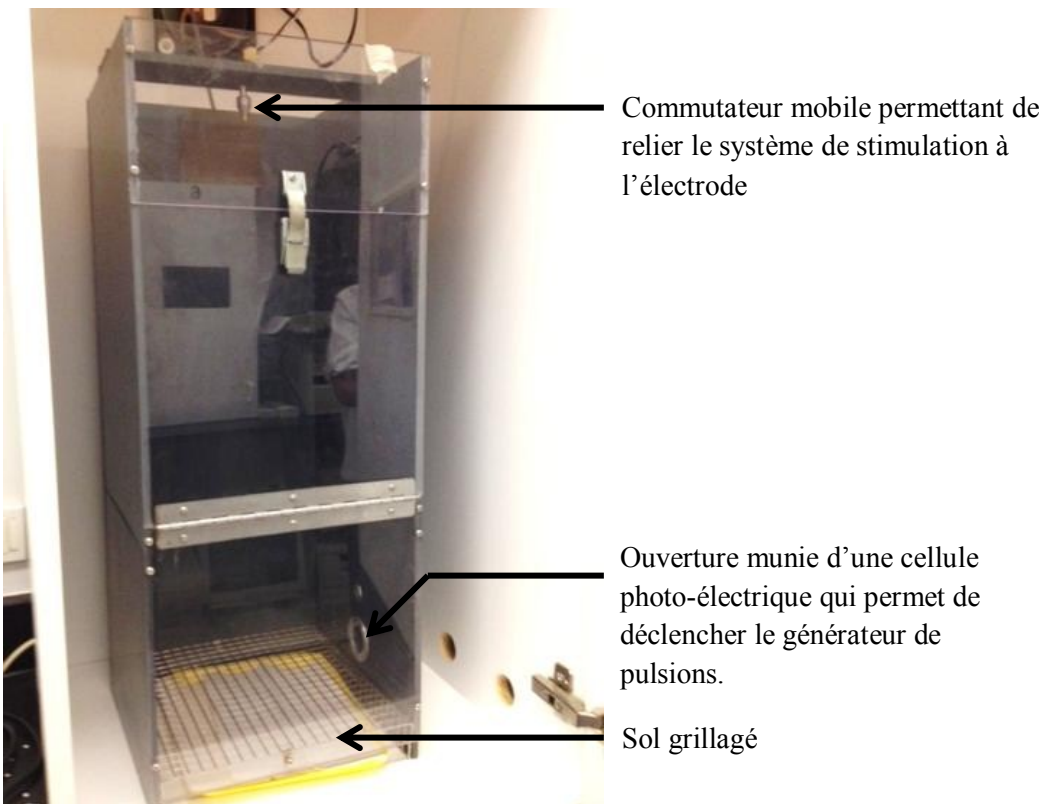
Dans notre étude, l'électrode de stimulation est localisée dans le mésencéphale postéro-médian alors que dans la majorité des études d'ASI, l'électrode de stimulation est localisée dans faisceau médian prosencéphalique (FMP) au niveau de l'hypothalamus latéral. La raison de ce changement de position est la suivante : le circuit de récompense est composé d'éléments nerveux qui passent par le FMP, l'ATV et la région médiane du mésencéphale (voir (Wise and Rompre 1989)). Un comportement d'ASI peut être induit par la stimulation de chacune de ces régions; d'ailleurs le circuit de récompense passe par ces trois régions sous-corticales (Shizgal, Bielajew et al. 1980, Boye and Rompre 1996). Dans notre étude, nous avons choisi d'implanter une électrode de stimulation dans le mésencéphale postéro-médian pour éviter d'activer les neurones dopaminergiques directement. En effet ces neurones comme nous l'avons mentionné dans l'**Introduction** sont indirectement modulés par les eCB et ils projettent aux régions limbiques rostrales telles que le NAc et le CPF en passant par le FMP. Il n'est pas exclu qu'ils soient activés directement lorsque l'électrode est localisée dans le FMP (Yeomans, Maidment et al. 1988). Une activation directe des axones dopaminergiques pourrait masquer par exemple l'action qu'un agent cannabinoïde pourrait exercer sur les afférences dopaminergiques dans l'ATV. Si l'action de l'agent cannabinoïde s'exerce au-delà de l'axone dopaminergique, au niveau des terminaisons nerveuses, la localisation de l'électrode dans un site ou dans l'autre, FMP ou mésencéphale postero-médian, ne devrait pas influencer sur les résultats.



### ***3.1 Phase d'entraînement/stabilisation.***

Cinq à sept jours après la chirurgie, les animaux sont placés dans des cages de test comprenant 3 murs en polymère (25 x 25 cm) et un mur frontal en Plexiglas permettant l'observation de l'animal. Pour réduire les bruits environnants, les cages de tests sont placées dans des boîtes d'isolation munies d'un système de ventilation. Chaque cage de test est équipée d'une cellule photo-électrique à l'intérieur d'une ouverture (3 cm de diamètre et 3 cm de profondeur) situé à 2 cm au-dessus du sol grillagé (**Figure II-6**). Lorsque l'animal entre son museau dans l'ouverture (nose-poke ou NP) la cellule photo-électrique est activée. L'électrode de stimulation est branchée à un générateur de pulsions au moyen d'un commutateur mobile permettant à l'animal de circuler librement dans la cage. Le générateur de pulsions active une unité de courant constant (Mundl 1980). En activant la cellule photo-électrique, l'animal déclenche le générateur de pulsions et une courte stimulation électrique est administrée à la pointe de l'électrode. La stimulation électrique consiste en une salve de 400 msec composée de pulsions cathodales, rectangulaires, d'une durée de 0.1 msec et d'une intensité constante. L'intensité des pulsions, exprimée en microampères ( $\mu\text{A}$ ), détermine la grandeur de la région à la pointe de l'électrode à l'intérieur de laquelle les neurones sont activés; plus l'intensité est grande plus la région est grande. À titre d'exemple, Fouriez et Wise (Fouriez and Wise 1984) ont montré que des pulsions de 0.1 msec et d'une intensité de 300 et 800  $\mu\text{A}$  devraient activer les neurones de récompense situés dans un rayon de 0.4 et 0.75 mm de la pointe de l'électrode respectivement. Le nombre de pulsions compris dans la salve de stimulation détermine le nombre de fois que les neurones situés dans le rayon supraliminaire sont activés. Puisque les pulsions durent 0.1 msec, une durée beaucoup plus courte que la durée d'un potentiel d'action, on peut inférer que chaque pulsion génère un seul potentiel d'action par

neurone. Lorsque le courant, ou l'intensité des pulsions, est constant, on peut aussi inférer que le nombre de neurones activés à la pointe de l'électrode par chaque pulsion est constant. Sur la base de ces deux postulats, on infère que la somme du nombre de neurones stimulés et du nombre de pulsions est égale au nombre total de potentiel d'actions générés par chaque salve de stimulation. Plus le nombre de potentiel d'actions est grand et plus le signal de récompense est grand. Dans les expériences d'ASI, le nombre de neurones stimulés est maintenu constant en gardant constant l'intensité des pulsions, ce qui veut dire que l'intensité du signal de récompense est fonction uniquement du nombre de pulsions par salve. Il est important de garder cela en mémoire.

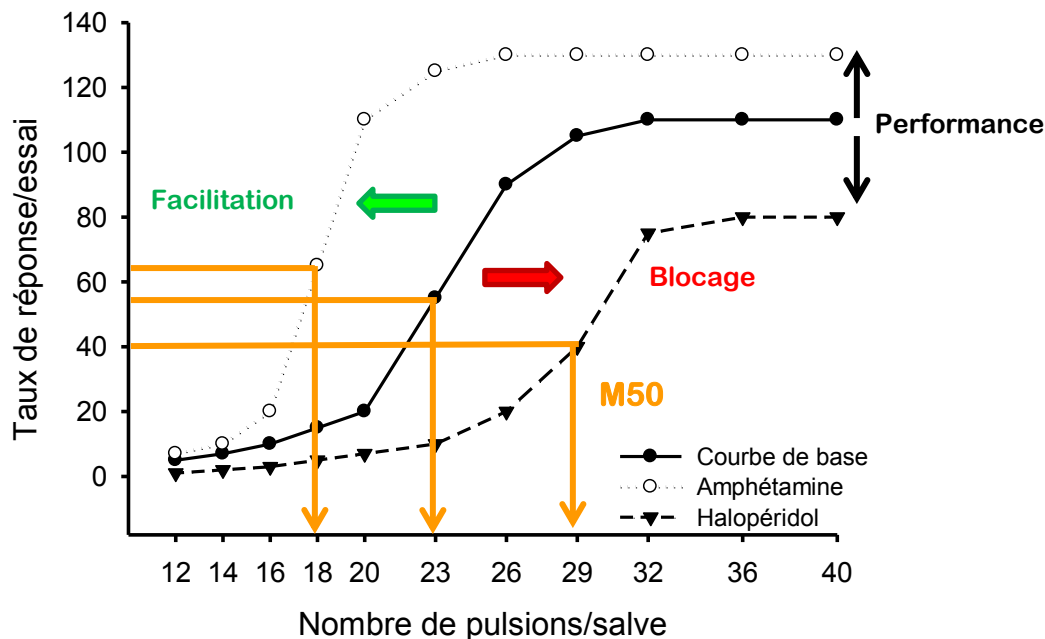


**Figure II-6 :** *Cage d'autostimulation intracérébrale.*  
Voir le texte pour plus de détails.

La première étape de cette phase consiste donc à déterminer si la stimulation électrique induit un effet de récompense. Pour ce faire, on fixe l'intensité des pulsions à 200  $\mu$ A puis la fréquence à 20 pulsions par salve et on administre de façon non-contingente des salves de stimulation lorsque l'animal se trouve tout près de la cellule photo-électrique. Si l'électrode est bien positionnée dans le mésencéphale postéro-médian, la stimulation électrique va induire un comportement d'exploration et d'approche ce qui est indicatif d'un effet de récompense. Si cet effet est suffisamment intense, l'animal va apprendre rapidement à produire un NP pour obtenir la stimulation. S'il n'est pas suffisamment intense, on peut augmenter l'intensité donc la région stimulée et/ou le nombre de pulsions, d'une façon progressive jusqu'à ce l'animal apprenne la tâche. Les paramètres, intensité et nombre de pulsions, sont ajustés par l'expérimentateur afin d'induire un comportement d'ASI soutenu. Une seconde étape consiste à entraîner l'animal à répondre pendant de courtes séances de 55 sec intercalées d'un temps d'arrêt de 15 sec. Au début de chaque séance, le système informatique qui contrôle tous les paramètres administre à l'animal 5 salves de stimulation puis il enregistre le nombre de NP pendant la séance de 55 sec. Le nombre de pulsions par salve est fixé de façon à ce que l'animal réponde vigoureusement pendant toute la séance. À la séance subséquente, le nombre de pulsions est réduit (par étape de 0.06 à 0.09 log) et une nouvelle séance est amorcée. Le nombre de pulsions par salve est ainsi réduit jusqu'à ce que l'animal cesse de répondre. Les données enregistrées permettent de tracer une courbe qui décrit le nombre de réponses (de NP) en fonction du nombre de pulsions par salve, une courbe que l'on appelle fréquence/comportement ou F/C (Edmonds and Gallistel 1974). À partir de la courbe F/C, on infère un indice de récompense qui correspond au nombre de pulsions par salve requis pour induire un nombre de réponses par séance égal à 50% du nombre maximum, un indice appelé

M50. Le nombre maximum de réponses (asymptote ou ASY) est un indice de la capacité de l'animal à produire la réponse donc de la performance.

La **Figure II-7** illustre trois courbes hypothétiques. La courbe en noir (cercles noirs) représente la courbe F/C déterminée dans la condition basale, sans traitement. La courbe avec les triangles pleins est celle que l'on devrait obtenir après l'injection systémique d'une petite dose d'halopéridol, un antagoniste aux récepteurs D2. On note que l'halopéridol a atténué les réponses sur une large gamme de pulsions ce qui causé un déplacement de la courbe vers la droite et vers le bas. L'indice M50 est augmenté et l'ASY est diminué. Ceci permet d'inférer que l'halopéridol a atténué le signal de récompense induit par la stimulation électrique et qu'il a aussi réduit la performance. A l'opposé, l'amphétamine (courbe avec des cercles vides) a augmenté les réponses sur une large gamme de pulsions et la courbe s'est déplacée vers la gauche. L'indice M50 a diminué et l'ASY a augmenté. Ceci suggère que l'amphétamine a amplifié le signal de récompense induit par la stimulation électrique et qu'elle a également augmenté la performance de l'animal. Les drogues qui produisent un effet de récompense amplifie le signal induit par la stimulation électrique et déplace la courbe vers la gauche alors que les drogues qui induisent un effet aversif l'atténue et déplace la courbe vers la droite (Wise and Rompre 1989, Nestler and Carlezon 2006).

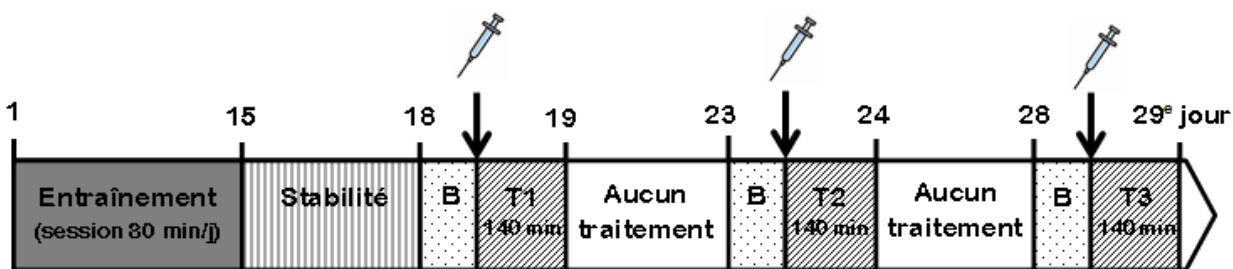


**Figure II-7 :** Exemples de déplacement de la courbe F/C.

Schéma illustrant trois courbes F/C, l'une obtenue en condition normale sans traitement (cercle noir plein), l'une obtenue après une injection systémique d'halopéridol (triangle) et une autre obtenue après l'injection systémique d'amphétamine (cercle vide). Représentation schématique basée sur les données de (Gormley and Rompre 2011) pour l'amphétamine et de (Boye and Rompre 2000) pour l'halopéridol. Voir le texte pour plus de détails.

### 3.2 Phase de test

Les tests ont débuté une fois que l'animal était bien entraîné et que le seuil de récompense (M50) était stable pendant 3 jours consécutifs (voir l'article 2 pour les détails). Au jour de test, on a déterminé quatre courbes F/C de base et on calcule la moyenne des M50 des trois dernières courbes. L'animal a été injecté avec le solvant ou la drogue et 7 nouvelles courbes F/C ont été déterminées (voir la Figure II-8). L'ordre des traitements a été contrebalancé et les tests ont été complétés en 3 ou 4 semaines.



**Figure II-8 :** Schéma de la procédure d'autostimulation intracérébrale.  
 Détails des différentes phases dans le texte. Abréviations : B=Baseline, T=Test.

Trois expériences ont été réalisées chez les rats adultes seulement.

Une première expérience avait pour objectif de déterminer si l'amplification par une dose (0.75 mg/kg) d'amphétamine de la récompense induite par l'ASI était différente chez les rats shams et les rats NVHL.

Une seconde expérience avait pour objectif de déterminer l'effet d'une dose de THC 0.5 mg/kg sur la récompense induite par l'ASI.

Une troisième expérience avait pour objectif de déterminer l'effet du WIN sur la récompense induite par l'ASI. Afin de déterminer si l'effet du WIN était dû à l'activation des récepteurs CB1, nous avons aussi testé le WIN chez des rats prétraités avec l'antagoniste CB1, l'AM251.

Pour plus de détails, se reporter à l'**article 2**.

### ***3.3 Pourquoi ce choix de conditionnement opérant ?***

Pour ce faire, il est important d'utiliser un paradigme qui permet de mesurer un effet motivationnel ayant une valence négative ou positive; c'est le cas du paradigme de PPC. Un autre paradigme qui permet de mesurer les deux effets motivationnels est l'ASI. En effet, il a été démontré que des traitements pharmacologiques qui induisent un effet motivationnel positif tel que les psychostimulants ont pour effet d'amplifier l'effet de récompense induite par l'ASI (Wise and Rompre 1989). À l'opposé des traitements pharmacologiques qui induisent un effet motivationnel négatif tel que les agonistes aux récepteurs opiacés de type KAPPA atténuent la récompense induite par l'ASI (Carlezon, Beguin et al. 2006). Contrairement à l'ASI, les paradigmes d'auto-administration intraveineuse et intracrânienne ne permettent pas de mesurer les deux valences motivationnelles. En effet, seules les substances qui induisent un effet motivationnel positif sont auto-administrées par les animaux.

# RÉSULTATS

---

## 1. Contribution des coauteurs

Deux articles seront présentés ci-après rendant compte des résultats obtenus dans le cadre de ce projet. Le statut de première auteure pour ces deux articles reflète ma contribution majoritaire pour l'ensemble des expériences décrites. J'ai planifié en accord avec mon directeur, le Dr Pierre-Paul Rompré, ces différentes études. J'ai exécuté les expériences décrites, analysé les résultats et écrit une première version de chaque article. L'interprétation des résultats ainsi que les versions retravaillées des articles ont été faites en étroite collaboration avec mon directeur. Il m'a également conseillée et orientée dans mes choix durant le déroulement de ces expériences.

Notre assistant de recherche, Claude Bouchard, a participé à la réalisation de certaines expériences notamment pour la locomotion et l'ASI. Il a également réalisé l'ensemble des chirurgies d'implantation des électrodes mobiles pour l'ASI due à une allergie de ma part aux produits utilisés pour la fixation de l'électrode.

Emmanuel Fortier, étudiant en médecine, a effectué durant son stage d'été dans le laboratoire plusieurs expériences d'ASI notamment avec le THC. Son aide m'a permis de finaliser les expériences de PPC avec le THC et de démarrer celle avec le WIN plus rapidement.

Charles Ducrot, étudiant au Master 1 en France et en stage d'échange pour 6 mois à l'Université de Montréal, m'a assistée pour la réalisation d'une partie des expériences d'ASI avec le WIN et l'AM251.



## 2. Article 1

Le but de cet article était de rendre compte des premières expériences établies avec le modèle NVHL en focalisant notre attention sur les effets motivationnels des cannabinoïdes. À notre connaissance, aucune étude ne rendant compte de ces effets, ce papier s'inscrit donc comme une étude originale. Nous avons, au préalable, réalisé les études d'activité locomotrice afin de vérifier si notre modèle était conforme aux données retrouvées dans la littérature. Une fois ceci établi, nous avons choisi d'étudier les effets motivationnels des cannabinoïdes grâce à un paradigme comportemental Pavlovien : la préférence de place conditionnée (PPC). Le choix des cannabinoïdes utilisés et leur dosage ont été motivés par les données fournies dans la littérature. Nous voulions également comparer ces effets entre deux types de cannabinoïdes : l'un écologique comme le THC, agoniste partiel CB1/CB2, et l'autre synthétique comme le WIN, agoniste complet CB1/CB2. L'usage du THC permettait de se rapprocher de la situation chez l'homme, bien qu'encore une fois les autres composés qui maintiennent la balance des effets généraux du cannabis ne soient pas inclus. D'autre part, pour avoir une idée plus ciblée de l'état du système eCB des animaux à phénotype « schizophrénique », l'usage d'un agoniste complet, ciblant essentiellement CB1/CB2 nous est apparu comme un choix judicieux.

# ARTICLE 1

## Behavioural Brain Research, 2014, 268, 202-212

*Animals with a schizophrenia-like phenotype are differentially sensitive to the motivational effects of cannabinoid agonists in conditioned place preference.*

A. Gallo<sup>1</sup>, C. Bouchard<sup>2</sup> and P-P. Rompré<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup> Faculté de médecine, Département de Psychiatrie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

<sup>2</sup> Faculté de médecine, Département de Neurosciences, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

<sup>3</sup> FRQ-S Research Center in Behavioural Neurobiology, Concordia University, Montréal, Québec, Canada.

### Proofs & Correspondance

Pierre-Paul Rompré

Université de Montréal  
Département de physiologie  
Bureau #2124  
C.P. 6128, Succ Centre-Ville  
Montréal, Québec  
H3C 3J7

## ***Abstract***

Cannabis is the most consumed illicit drug worldwide, but among patients with a diagnosis of schizophrenia, this consumption is higher suggesting that they are differentially sensitive to cannabis. We chose to study this problematic using a neurodevelopmental model of schizophrenia: neonatal ventral hippocampus lesions (NVHL). In a first study, we compared the locomotor response to novelty, a mild stress and two doses of amphetamine (0.75 and 1.5 mg/kg) in sham and NVHL rats at post-natal day 35 (PD35) or 56 (PD56). In a second study, we investigated the valence of the motivational effect of Delta-9-tetrahydrocannabinol (THC, 0.5 mg/kg, i.p.) and the cannabinoid receptor agonist, WIN55,212-2 (WIN, 1 mg/kg, i.p.), using the conditioned place-preference paradigm; we used a biased procedure that comprised 12 days of testing with 3 paired-conditioning. The effects of this dose of WIN were also measured on locomotor activity. Results confirmed that the adult NVHL animals displayed a stronger locomotor response to the two doses of amphetamine, but not to novelty and a mild stress. In adult NVHL, but not sham animals, WIN stimulated locomotor activity and produced a conditioned place aversion. At the dose tested, THC tended to produce an aversion in adult sham but not NVHL animals. Taken together these findings show that adult animals with a schizophrenia-like phenotype are differentially sensitive to the motivational effect of cannabinoids.

**Keywords:** Amphetamine; Cannabinoids; Conditioned place preference; Neonatal ventral hippocampus lesion; Schizophrenia

## ***Introduction***

Cannabis and schizophrenia are hardly to be found non-associated today. Indeed, cannabis consumption in schizophrenia patients is ten times higher than in the global population [1]. Moreover, recent studies suggest that the use of cannabis is associated with an earlier diagnosis of schizophrenia in vulnerable patients [2]. Initially, it was believed that cannabis was a kind of self-medication, used to alleviate some of the symptoms of the disease and/or side-effects of the medication [3]. Recent observations, however, suggest that this is unlikely because cannabis worsens rather than reduces psychotic symptoms and side-effects [4]. Since cannabis can induce both aversive and rewarding effects, and that these patients consume more cannabis than the global population, the following question arises: are they differentially sensitive to its rewarding effect and/or its aversive effect?

The literature on the motivational effects of cannabinoids is controversial. Some authors report rewarding effects with Delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) and the non-selective cannabinoid receptor agonist, WIN 55,512-2 (WIN). Low doses of THC, for instance, decrease reward threshold for intracranial self-stimulation (ICSS) [5], induce a conditioned-place preference (CPP) [6] [7] and sustain intracerebroventricular self-administration in rats [7]. Rats can also be trained to self-administered intravenously WIN, and this behavior is associated with an increase in extracellular levels of ventral striatal dopamine, a reward-relevant neural event [8] [9]. But others not only failed to find any rewarding effects of cannabinoids but reported aversive effects. Using the ICSS paradigm along with the curve-shift measurement method, Vlachou et al. [10-12] reported that systemic injections of WIN or THC produced a dose-dependent attenuation of reward. Several studies also reported a conditioned-place aversion

(CPA) with systemic injections of either low to high doses of THC [6, 13-15] or low to medium doses of WIN [16].

Adding to this complexity are some studies that failed to reveal either a rewarding or an aversive effect of cannabinoids. Fokos and Panagis [17] did not find any changes in ICSS reward threshold after systemic injection of low doses of THC and others did not observe a CPP nor a CPA with low doses of THC [12, 13] or WIN [18].

The discrepancy between the results of so many studies suggests that the valence of the motivational effect of cannabinoids is dependent upon several variables such as the animal strain, the dependent variable associated with each behavioral paradigm, conditions such as food or water deprivation [19] and the duration of the wash-out period between each drug injection [6, 20].

To better understand the neurobiological bases of cannabis use in schizophrenia, it is essential that studies be carried out with a valid animal model of the disease. There have been several behavioral studies carried out with different animal models of psychosis or schizophrenia (for review, [21]), but none of them has investigated the motivational effects of cannabinoids. In this study, we addressed this later issue using the neurodevelopmental model developed by Lipska and Weinberger [22]. This model consists of lesioning the ventral hippocampus early after birth and testing the animals at different lifetime periods; it has excellent face and predictive validities as several behavioral abnormalities are homologous to those observed in schizophrenia patients and become evident only at the early period of adulthood (for review, [23]). The present study was thus aimed at investigating the valence of the motivational effect of THC and WIN in animals that had neonatal lesions of the ventral hippocampus (NVHL).

Studies were carried at two time periods, at post-natal days 28 to 40 (PD28-40, adolescence) and at PD56 to 68 (adulthood).

## ***Materials and methods***

### **Animals**

Female Sprague-Dawley rats (Charles River breeding farm, St-Constant, Quebec) were purchased at 15-17 days of gestation. They were housed individually in Plexiglass cages in a room with a constant temperature (20-22 °C) and humidity (40-45 %), and a 12h light: 12h dark cycle (6 am/6 pm). They had free access to food and water. Each dam gave birth to 6 to 18 pups; female pups were culled just before surgery, at PD6-7 to keep males at a weight between 15 and 18 g at the time of surgery. All experimental procedures were in accordance with the Canadian Council on Animal Care and all efforts were made to minimize the number of animals used.

### **Neonatal surgical procedure**

The surgical procedure was based on the description by Lipska and Weinberger [22]. On the 6th or 7th day of age, male pups were anesthetised by isoflurane inhalation (induction 5 %, maintenance 1-2 %, 1-2 L/min O<sub>2</sub>) and placed on a stereotaxic instrument adapted for small animals. An incision was made to the skin overlying the skull and a burr hole was made at the point of entrance of the injection cannula (0.3 mm o.d.) in each hemisphere. The injection cannula was lowered into the left and right ventral hippocampal formation at the following stereotaxic coordinates: 3.0 mm posterior to bregma, 3.5 mm lateral to the sagittal line and 4.5 mm below the surface of the cranium. It was connected with polyethylene tubing to a 10 µl

microsyringe, and a volume of 0.3  $\mu$ l of a solution containing 5  $\mu$ g/ $\mu$ l of ibotenic acid was injected with a micro-infusion pump over a period of 2 min; the injection cannula was left in place for an additional minute to allow diffusion into the tissue. After the second injection, the incision was closed with Vetbond (CDMV, Canada) and the pups were allowed to recover on a heating pad; upon awakening they were returned to their mother. For sham animals, identical surgical procedures were applied with the exception that the injection cannula was not inserted into the brain to prevent damage to the brain and to control for stress related to the procedures. Fourteen days after surgery, at PD21, animals were weaned and housed 2-3/cage; each group contained at least one sham and one NVHL animal.

## **Experimental procedure**

### *Locomotor activity test*

Experiments were performed during the light cycle between 8 am and 5 pm with adolescent and adult rats beginning at PD35 and PD56 respectively. Locomotor activity was measured using an Opto-Varimex Auto Track System (Columbus Instruments, Columbus, OH, USA) that consists of Plexiglass cages (43 cm x 43 cm x 33 cm) equipped with two arrays of 15 infrared photocells located 1.5 and 14.5 cm above the wire-mesh floor to detect horizontal and vertical movements respectively. Computer software quantified ambulatory activity by calculating the distance traveled beyond a virtual box of 9.6 cm x 9.6 cm drawn around the animal; the location of the animal within the box was determined ten times per second. Movements detected within the virtual box were considered as non-ambulatory and were quantified as time (s) during which photocell beam interruptions were detected. Vertical

activity was quantified as the total number of photocell beam interruptions produced by rearing [24] (for validation data on these measures of activity).

On the test day, unhabituated animals were weighted and placed into the cage for 30 min. to measure their locomotor responses to a novel environment. They were then injected with a 0.9% NaCl solution (1 ml/kg, i.p) and placed again into the cage for 30 min for monitoring locomotor responses to a mild stress. Following this second test, they were injected with one of two doses of d-amphetamine (0.75 or 1.5 mg/kg, i.p) and their locomotor responses were measured for 90 min. All these tests were performed in the dark and in the presence of a white noise (70 dB) to mask external noises.

In different groups of sham and NVHL adolescent and adult animals, the effects of the CB1 agonist, WIN, was tested on locomotor activity. On the first day of testing each animal was injected with vehicle or 1 mg/kg (i.p) of WIN and placed in the activity box for 30 min. Four days later the animals previously injected with WIN received the vehicle and the others WIN and locomotor activity was measured for 30 min.

#### *Conditioned place preference test*

The conditioned place preference (CPP) apparatus consisted of a three compartments box: a black compartment (27 x 22 x 26 cm) with a stainless steel grid rod floor, a white compartment (27 x 22 x 26 cm) with a stainless steel mesh floor and a central gray compartment (14 x 22 x 26 cm) with a grey plexiglass floor. The white and black compartments were separated from the center gray compartment with a guillotine door and each compartment was equipped with infrared photo-beams to detect motor activity (Med



Associates Inc, VT, USA). Each box was encased into a sound-attenuating ventilated black melamine box.

On the first two days, the animals were placed into the center compartment of the CPP apparatus and were allowed free access to the entire box for 30 min. On day 3, they were placed into the apparatus and the time spent in each compartment was measured for 15 min to establish the baseline preference. The conditioning phase began on the fourth day and consisted in a 3-day cycle : On the first day of a cycle, the animals were injected with the drug or vehicle and were confined to the preferred compartment for 30 min. On the next day, they were all injected with the vehicle and were confined to the non-preferred compartment for 30 min. On the third day, the animals were placed into the center compartment with free access to the other compartments and the time spent in each compartment was measured. The 3-day cycle was repeated again twice so that three CPP tests were run (see schema in **Fig.1**). A similar biased procedure was used by Davis et al. [25] to reveal differences in the rate of acquisition a CPP to morphine in two different rat strains. A pilot study run in our lab also shows that a clear CPP to amphetamine can be obtained with this procedure (**Supplementary Fig. S1**). It has the advantage of minimizing the probability of inducing a dysphoric effect during the vehicle pairing day related to a carryover effect due to closely spaced THC injections [6]. The average time spent in the preferred compartment for all the groups tested range from 383 to 450 s.

Conditioned place preference tests were run in different sham and NVHL rats beginning at the PD28 or PD56 with THC (0.5 mg/kg) and WIN (1 mg/kg). The following groups were tested: sham and NVHL groups that were paired with the vehicle in each compartment (Sham-

Vehicle (SV) and NVHL-Vehicle (LV), and sham and NVHL groups paired with the drug (THC or WIN) in the preferred compartment and vehicle in the non-preferred compartment ((Sham-THC (ST) or Sham-WIN (SW) and NVHL-THC (LT) or NVHL-WIN (LW)). A pairing of the drug with the preferred compartment was used to enhance the probability of detecting either a conditioned place-aversion or a conditioned place-preference. After each run the apparatus was cleaned with a 70% ethanol solution.

## **Histology**

At the end of the experiments, rats were anaesthetised with isoflurane (5 %, 0.6 L/min O<sub>2</sub>), decapitated, the brains removed and frozen with 2-methylbutane (99.2 %) and stored at - 80 °C. The brains were subsequently sliced into 40 µm serial sections that were mounted on gelatine-coated glass slides. Slices were stained with thionin (Nissl technique) and the extent of the lesion was determined under light microscope by two independent investigators.

## **Drugs**

Delta-9-tetrahydrocannabinol (Tocris UK) was dissolved into a solution that contained 2 % ethanol, 8 % polyethylenglycol-600 (Sigma-Aldrich, Canada, 250 g) and 90 % saline. WIN55,212-2 mesylate salt (Tocris, UK) was dissolved in a solution that contained 5 % dimethyl sulfoxide (Sigma-Aldrich, Canada, 500 ml), 5 % cremophor EL (Sigma-Aldrich, Canada, 500 g) and 90 % saline(0.9 %). Dextro-amphetamine sulfate (Tocris UK) was dissolved in a 0.9 % saline solution. Amphetamine and THC were injected in a volume of 1 ml/kg and WIN in a volume of 3 ml/kg. All doses are expressed as salt.

## **Data analysis**

Parameters of locomotor activity (distance travelled, time of non-ambulatory movements and vertical counts) were computed every 5, 15 or 30 min, group means were calculated and analyzed with a one-way or two-way ANOVA with repeated measures on time. The time spent in each compartment on the day of the preference test was measured and expressed as percent of baseline. Group means were calculated and analyzed with a two-way ANOVA with repeated measures on test day. Homogeneity of variances was tested with Levene's test and a square root or log data transformation, or a non-parametric one way ANOVA (Kruskal-Wallis test for independent groups) was performed when necessary; in the case of repeated measure ANOVA, Greenhouse-Geiser correction of degree of freedom was applied. Comparisons among means were made with Duncan's post hoc or Mann-Whitney test with a level of significance set at 0.05.

## ***Results***

### **Histology**

Analysis of the thionin-stained brain sections from NVHL adolescent and adult animals revealed a major atrophy of the mid-portion of the ventral hippocampus characterized by cell loss and gliosis, and enlargement of the lateral ventricles (**Fig.2**). Lesions extended over 1.8 mm between 4.2 and 6.0 mm posterior to bregma (**Fig.2a**). There was no evidence of hippocampal damage in sham animals (**Fig.2b**) at either age which is consistent with the fact that the cannula was not inserted into the brain during surgery. Animals that had tissue damage

to the dorsal hippocampus or asymmetric lesions were excluded from the analysis; overall 37% of the animals initially prepared were excluded.

## **Locomotor activity studies.**

### *Novelty, mild stress and amphetamine*

**Fig.3** illustrates mean ambulatory activity measured at PD35 and at PD56 in NVHL and sham animals during the initial exposure to the test cage (novelty) and after a mild stress (i.p saline injection). At PD35, the ANOVA yielded a significant group x time interaction for novelty ( $F_{4.31,167.89} = 2.43$ ,  $p < 0.05$ ; **Fig.3a**) but no significant effect for mild stress (group  $F_{1,39} = 0.84$ ,  $p > 0.05$ ; group x time:  $F_{2.72, 106.05} = 1.07$ ,  $p > 0.05$ ; **Fig.3b**). After being exposed to novelty, NVHL adolescent animals had a higher level of ambulatory activity at 30 min (**Fig.3a**). While the level of non-ambulatory activity was not different between groups for both tests, novelty induced a higher level of vertical activity in sham adolescent animals ( $F_{1,39} = 7.31$ ,  $p = 0.01$ , not shown). There was no difference in non-ambulatory and vertical activity between groups following the mild stress (data not shown). At PD56, novelty and the mild stress induced the same level of ambulatory activity in sham and in NVHL animals (group  $F_{1,68} = 1.96$ ,  $p > 0.05$ ; group x time:  $F_{3.83, 260.71} = 0.928$ ,  $p > 0.05$ ; stress, group  $F_{1,68} = 0.01$ ,  $p > 0.05$ ; group x time:  $F_{3.31, 225.49} = 1.73$ ,  $p > 0.05$ ; **Fig.3c and Fig.3d**). Similar results were obtained for non-ambulatory and vertical activity (data not shown).

As expected, amphetamine induced a higher level of ambulatory activity in NVHL than in sham animals, an effect that was observed at both doses at PD56 (**Fig.4c and d**). At the low dose, the level of ambulatory activity in NVHL animals was higher than in sham animals between 30 and 60 min after the injection ( $F_{3.43,150.83} = 7.65$ ,  $p < 0.001$ , **Fig.4c**). This

difference was not present at PD35 (group,  $F_{1,14} = 0.17$ ,  $p > 0.05$ ; group x time,  $F_{1,23} = 0.99$ ,  $p > 0.05$ ; **Fig.4a**). Adult NVHL animals were also more responsive to a higher dose of amphetamine than sham animals at PD56 (group:  $F_{1,22} = 5.45$ ,  $p < 0.05$ ; group x time:  $F_{2,25,49.48} = 3.13$ ,  $p < 0.05$ ; **Fig.4d**), a higher sensitivity that was not present at PD35 (group:  $F_{2,62,60.37} = 0.87$ ,  $p > 0.05$  group x time:  $F_{2,62,60.37} = 0.87$ ,  $p > 0.05$ ; **Fig.4b**). The level of non-ambulatory and vertical activity did not differ between groups after the injections of the low and high dose of amphetamine, neither at PD35 nor at PD56 (data not shown).

#### *WIN-55,212-2*

The locomotor responses measured after injection of vehicle and WIN in sham and NVHL animals at PD35 and PD56 are shown in **Fig.5**. At PD35, WIN had no effect on ambulatory ( $F_{3,34} = 0.58$ ,  $p > 0.05$ ; **Fig.5a**), non-ambulatory ( $F_{3,34} = 0.58$ ,  $p > 0.05$ ; **Fig.5b**) and vertical activity ( $F_{3,34} = 0.58$ ,  $p > 0.05$ ; **Fig.5c**). However, at PD56, WIN produced a statistically significant increase in ambulatory activity in NVHL but not in sham animals (**Fig.5e**); Kruskal-Wallis test yielded a significant effect of treatment ( $H = 10.9$ ,  $df = 3$ ,  $p < 0.05$ ) and post-hoc test confirmed that there was significant difference between vehicle and WIN for the NVHL animals and between sham and NVHL injected with WIN. Such a difference was not observed for non-ambulatory ( $F_{3,36} = 1.65$   $p > 0.05$ ; **Fig.5f**) and vertical activity ( $F_{3,36} = 1.23$   $p > 0.05$ ; **Fig.5g**).

## Conditioned place preference

### *THC*

The difference in time spent, expressed in percentage, in compartment paired with vehicle only and with the THC have been measured in sham and NVHL animals at PD35 (**Fig.6a and 6b**) and PD56 (**Fig.6c and 6d**) at each CPP test. At PD35, sham animals (**Fig.6a**) tended to develop an enhanced preference for the THC paired compartment but this effect did not reach statistical significance. The ANOVA yielded no treatment effect ( $F_{1,22} = 0.05$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by test interaction ( $F_{1,92,42.34} = 0.82$ ,  $p > 0.05$ ). Adolescent NVHL animals (**Fig.6b**) tended to show an opposite effect, spending less time in the paired compartments, independent of the treatment. The ANOVA yielded no treatment effect ( $F_{1,16} = 0.33$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by test interaction ( $F_{1,68,31.57} = 0.47$ ,  $p > 0.05$ ).

At PD56, sham animals (**Fig.6c**) progressively spent less time in the THC paired compartment which is suggestive of an aversive effect. But animals that were paired with the vehicle only, also showed a similar trend and the ANOVA yielded no treatment effect ( $F_{1,34} = 1.6$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by test interaction ( $F_{1,95,66.27} = 1.52$ ,  $p > 0.05$ ). We observed, however, that adult sham animals conditioned with THC spent significantly more time in the neutral compartment on each test day (**inset, Fig.6c**) than those conditioned with vehicle only, hence suggesting that THC lead to a quick aversion for both conditioned compartments ( $F_{1,34} = 4.5$ ,  $p < 0.05$ ). Such an increase in the time spent in the neutral compartment was not observed at PD35 (treatment effect:  $F_{1,22} = 0.68$ ,  $p > 0.05$ ; treatment by test interaction:  $F_{1,61,35.36} = 0.84$ ,  $p > 0.05$ ). Adult NVHL animals also tended to spend less time in the THC paired compartment, an effect that was less pronounced however on the third test (**Fig.6d**). A reduction in the time

spent in the initially preferred compartment was also observed in vehicle paired animals and the ANOVA yielded no treatment effect ( $F_{1,31} = 0.08$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by test interaction ( $F_{1.75,54.22} = 2.68$ ,  $p > 0.05$ ). Unlike the sham animals, adult NVHL animals conditioned with THC did not developed an aversion for the paired compartments as they spent as much time as the animals conditioned with the vehicle only in the neutral compartment (**inset, Fig.6d**). The ANOVA yielded no treatment effect ( $F_{1,31} = 0.002$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by test interaction ( $F_{1.38,42.79} = 0.32$ ,  $p > 0.05$ ).

#### *WIN-55,212-2*

The difference in time spent (expressed in percent) in compartment paired with vehicle only and with WIN have been measured in sham and NVHL animals at PD35 (**Fig.7a and 7b**) and PD56 (**Fig.7c and 7d**) at each CPP test. At PD35, sham animals (**Fig.7a**) showed no clear tendency for a preference or an aversion and the ANOVA yielded no treatment effect ( $F_{1,24} = 0.08$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by test interaction ( $F_{1.34,32.09} = 0.10$ ,  $p > 0.05$ ). Lesioned animals (**Fig.7b**), however, showed a decrease in time spent in vehicle and WIN paired compartments, an effect slightly more pronounced for WIN than for vehicle. The ANOVA, however, yielded no treatment effect ( $F_{1,18} = 0.85$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by test interaction ( $F_{1.77,31.78} = 0.04$ ,  $p > 0.05$ ).

At PD56, sham animals (**Fig.7c**) progressively spent less time in the WIN paired compartment an effect that was less pronounced in those paired with the vehicle. The difference, however, did not reach statistical significance and the ANOVA yielded no treatment effect ( $F_{1,18} = 0.28$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by test interaction ( $F_{1.17,20.98} = 1.77$ ,  $p > 0.05$ ). Adult sham animals conditioned with WIN did not spend more time than those conditioned with vehicle only in the

neutral compartment, hence suggesting that they did not develop an aversion to the paired compartments (**inset, Fig.7c**; treatment effect:  $F_{1,18} = 0.14$ ,  $p > 0.05$ ; treatment by test interaction:  $F_{1.87,33.61} = 1.0$ ,  $p > 0.05$ ).

Contrary to adult sham animals, NVHL animals showed an aversion to the WIN paired compartment, an effect that was present throughout the testing period (**Fig.7d**). The ANOVA yielded a significant effect of treatment ( $F_{1,18} = 13.1$ ,  $p < 0.01$ ) but no treatment by test interaction ( $F_{1.22,9.76} = 1.34$ ,  $p > 0.05$ ). There was a tendency for NVHL animals conditioned with WIN to spend more time in the neutral compartment in comparison to those conditioned with vehicle only (**inset, Fig.7d**); this difference did not reach statistical significance however (treatment effect:  $F_{1,18} = 2.4$ ,  $p > 0.05$ ; treatment by test interaction:  $F_{1.84,14.7} = 0.43$ ,  $p > 0.05$ ).

## ***Discussion***

The present study was aimed at investigating the motivational effects of WIN and THC, two cannabinoid agonists, in NVHL animals. Previous studies have consistently reported that adult, but not adolescent, NVHL animals display a stronger locomotor response to amphetamine than sham. In order to confirm that the modified lesion procedure that we used reproduces this behavioral phenotype, we first tested the effects of amphetamine on locomotor activity at PD35 and PD56. Because the amphetamine dose-response function is not linear due to occurrence of stereotypy-like movements at high doses (or in highly sensitive animals), we tested two doses of amphetamine and measured three different components of locomotor activity: ambulatory, non-ambulatory and vertical activity. Our results show that at each dose amphetamine produced significantly higher ambulatory activity in NVHL than in sham animals. As expected the higher sensitivity to amphetamine was seen at PD56 but not PD35.



The fact we found no differences in non-ambulatory and vertical activity between NVHL and sham confirms that the lower ambulatory activity in sham was not a consequence of a higher expression of other behavioral activity. Some studies have also reported a higher locomotor response to novelty and a mild stress in NVHL animals [22, 26], effects that we did not find in the present study. Others also failed to observe a difference in locomotor activity following exposure to a novel environment and/or a systemic saline injection [27, 28]. Wan et al. [29], for instance, showed that NVHL animals that were tested at PD35 and at PD56 did not display higher locomotor response to novelty but were still more responsive to amphetamine. That suggests the pharmacological challenge better differentiates NVHL and sham animals and that the response to novelty is highly sensitive to the experimental conditions. In our study, animals were tested in the dark during their light cycle. It could be that dark-induced hyperlocomotion is stronger in sham than in NVHL animals. The stimulant effect of darkness on locomotor activity is mediated by the NAc, a brain region that is functionally abnormal in NVHL animals [30, 31]. The fact that our NVHL animals were consistently more responsive to amphetamine and that this occurred at PD56 only provide evidence that our modified lesion procedure reproduces the most salient behavioral phenotype of Lipska and Weinberger's model.

Because activation of the reward-relevant pathway by either drugs of abuse or electrical stimulation induces an increase in exploratory behavior and forward locomotion [32, 33], we first tested the effect of a low dose of WIN on locomotor activity. Results show that NVHL animals reacted differently than sham animals, displaying a strong increase in ambulatory activity, an effect that was present at PD56 but not at PD35. These results are somewhat similar to those obtained in our previous experiments with amphetamine. First, the difference

between NVHL and sham was found only at PD56 and second, we did not observe any differences between NVHL and sham on non-ambulatory and vertical activity. That latter result demonstrates that the lower activity in sham animals is not due to occurrence of stereotypy-like movements and well reflects a difference in response to WIN. Some studies have tested the effects of WIN on locomotor activity in normal animals at a same range of doses (1.0-1.25 mg/kg) and found either no change or a significant suppression compared to vehicle [18, 34-37]. These results are consistent with results that we obtained with adult shams. They are rather unexpected, however, because WIN induces a significant increase in extracellular striatal DA, a phenomenon that is predictive of an increase in forward locomotion (see [38]). Polissidis et al. [37] studied the effects of two doses of WIN on locomotor activity and on the release of DA and glutamate in the striatum and the prefrontal cortex (PFC) in adult animals. At a low dose (0.1 mg/kg), WIN stimulated locomotor activity and produced a selective increase in DA in the striatum. At 1 mg/kg, however, WIN inhibited spontaneous locomotion and produced an increase in DA in the striatum as well as an increase in DA and glutamate in the PFC. Previous studies have shown that an increase in PFC DA may counteract or inhibit the behavioral effects of an increase in striatal DA. Microinjection of amphetamine into the PFC inhibits the hyperlocomotion induced by amphetamine injected into the ventral striatum, an effect mediated by PFC D1 receptors [39]. Indirect evidence also suggests that an increase in PFC glutamate may inhibit locomotor activity. Blockade of PFC NMDA receptors stimulates locomotor activity [40, 41] and PFC lesions prevents phencyclidine-induced hyperactivity [41]. Prefrontal cortex electrical stimulation produces also behavioral inhibition [42]. It could be then that the increase in PFC glutamate induced by WIN counteracts its effect on ventral striatal DA, leading to either no change or to a

suppression of locomotor activity in normal animals. There is no direct evidence for an alteration of these neurochemical effects of WIN in NVHL animals. But Beninger et al. [43] showed that potassium-induced increases in glutamate release in PFC slices is significantly reduced in adult NVHL animals, suggesting that PFC glutamate neurotransmission is altered in these animals. Moreover, PFC and ventral striatum neurons respond abnormally to electrical stimulation of the ventral tegmental area (VTA). In sham animals, these neurons are inhibited by VTA stimulation while in NVHL they are excited [31, 44]. Since CB1 receptors exert a strong modulation on afferent input to the ventral striatum and the PFC [45], it was not unexpected that WIN produces different locomotor effects in sham and NVHL animals.

To further characterize the motivational effects of cannabinoids, we used the CPP paradigm. We chose to evaluate this behaviour in a three-compartment apparatus with a biased, unusual conditioning procedure. The use of a three-compartment conditioned place preference apparatus is qualified as an unforced choice procedure [46]. The neutral compartment is a non-associated, smaller and more comfortable space which can be seen as a safer environment for the animal even if there is a high luminosity in it. We speak of an unusual procedure because we chose to perform preference tests between each conditioning period. This procedure was firstly inspired by Gardner and workers [6] who had a wash-out day after each conditioning and giving 96 h between each drug pairing. In addition to increasing the time between drug injections, a consideration to avoid dysphoric rebound, it allows one to detect differences in the time course of acquisition of a conditioned effect between control and experimental groups [25]. The choice of a biased procedure has been motivated by the fact that in the majority of studies, cannabinoid agonists produce negative or aversive effect (for review, [47]). Based on this, if both the drug effect and/or the injection procedure is/are unpleasant for the animal, it is

expected to increase its time spent in the neutral compartment. This would reflect an aversive effect of the drug, as often reported with cannabinoids (for review, [48]).

Results that we obtained with this procedure show that THC produced no conditioned effect in sham and NVHL animals at PD35; the similarity between the two groups is in accordance with the NVHL model where a distinction is rarely observed at this age. At PD56, THC tended to produce an aversion in sham animals. This is based on the significant difference between vehicle and THC-treated sham animals for the time spent in the neutral compartment. Such an increase in the time spent in this neutral compartment could be indicative of an aversive effect for both, the compartment paired with THC and the compartment paired with the vehicle. However, we found no significant difference between the time spent in the vehicle paired compartment for both groups hence suggesting the increase amount of time spent in the neutral compartment reflects an aversion generated by THC. Interestingly this pattern was not observed in NVHL animals, suggesting that they were insensitive to that dose of THC. It is interesting to notice however that the preference score decrease from T2 to T3 in NVHL animals, suggesting that they spent more time (avoid less) in the THC-paired compartment. It could be that a preference would have been revealed in NVHL animals had we done more than 3 paired-conditioning.

Previous studies have suggested that the motivational effects of THC as measured with the CPP paradigm are largely dependent upon administration of a priming injection and/or the injection schedule [6, 20]. In our study, the animals were not primed with THC before the beginning of the CPP test in order to be able to detect either an aversion or a preference. Moreover, successive drug injections were spaced apart as suggested by Lepore et al. [6] so

that the occurrence of a dysphoric after-effect is reduced. Previous studies that have tested the effect of THC in the CPP paradigm used doses that were either smaller or larger and the results were somewhat contradictory; some studies found a preference while others report an aversion (see [47]). Moreover, different rat strains were used, and some of them, such as Lewis and Fischer344 rats, are differentially sensitive to drugs of abuse rendering comparison difficult. Previous CPP studies carried out with Wistar [14] and Sprague-Dawley [49] rats reported a CPA with a dose of THC of 1 mg/kg, but not 0.5 mg/kg, findings that are somewhat in accordance with the present results with sham rats.

Results that we obtained with WIN were less ambiguous but different between sham and NVHL animals. At PD56, NVHL animals displayed an aversion to the WIN-paired compartment, an effect not seen in sham animals. Moreover the aversive effect initiated by WIN was not present at PD35. It is also interesting to notice one pairing with the WIN was sufficient to initiate an aversion in NVHL animals. Together, these findings provide evidence that NVHL animals develop from adolescence to adulthood a differential sensitivity to this cannabinoid agonist. Two studies reported a CPA with a similar dose of WIN (1-1.25 mg/kg; [16, 50]) in adult normal animals. These findings are different than those we obtained with sham animals. Methodological differences may well account for this discrepancy. As previously mentioned, we spaced drug injections by 72 h to avoid occurrence of dysphoric effects during pairing with the vehicle compartment due to a carryover effect. We also used a three compartment apparatus while Chaperon et al. [16] used an open field divided into two compartments. Finally, we ran a conditioned test every second day.

Results that we obtained with WIN in the CPP paradigm are rather in contradiction with those that we obtained with locomotor activity. Based on the effects of WIN on locomotor activity in NVHL animals, it was reasonable to anticipate a CPP, not a CPA. In effect, drugs of abuse that stimulates locomotor activity generally produced a CPP [38]. Moreover, WIN produced an increase in ventral striatal DA and stimulates VTA DA cell firing [51], effects also predictive of a CPP [52]. The ventral striatal DA innervation is coming from VTA DA neurons and there is a large body of evidence showing that eCBs modulate glutamatergic and GABAergic afferents to these neurons [45]. Activation of VTA CB1 receptors may increase or decrease VTA DA impulse flow by reducing GABA and glutamate release respectively. This modulation is not limited to DA neurons that project to the ventral striatum as WIN also increases PFC DA release and stimulates firing of VTA DA neurons that project to the PFC (see [53]). Interestingly, selective activation of VTA DA neurons that project to the PFC produces a CPA while activation of DA neurons that project to the lateral shell region of the ventral striatum produces a CPP [54]. In NVHL animals, both PFC and ventral striatal neurons respond abnormally to VTA electrical stimulation. In adult normal animals, VTA electrical stimulation inhibits the activity of these neurons [55] while in adult NVHL animals it produces an opposite increase in cell firing [31]. Moreover, WIN reverses the inhibition of PFC neurons by VTA electrical stimulation in normal animals. Since WIN appears to be able to activate both pathways, and modulates VTA input to the PFC, its net motivational effect in NVHL animals likely results, at least in part, from the balance between activation of both pathways and the interaction with the abnormalities that characterize the NVHL animals.

The limitations of our study mostly reside in the use of a single dose of each cannabinoid. Comparisons of the effects of both drugs required investigations of a wide range of doses of

each. But the primary goal of our study was to determine whether the motivational effects of these drugs differ in the NVHL animals, and in the event, whether the differences occur only in adulthood. The initial experiment demonstrated that we reproduced the model with the lesion procedure that we used. The other experiments clearly showed that NVHL animals differently respond to cannabinoids, at least with the CB1/CB2 agonist, WIN. Our findings clearly warrant further investigations of adult NVHL animals. They also show that if we were to better understand the neural bases of co-morbidity between drug addiction and psychiatric disorders, experiments must be carried out with a valid animal model of the disease.

## ***References***

- [1] Koskinen J, Lohonen J, Koponen H, Isohanni M, Miettunen J. Rate of Cannabis Use Disorders in Clinical Samples of Patients With Schizophrenia: A Meta-analysis. *Schizophr Bull.* 2009.
- [2] Di Forti M, Morrison PD, Butt A, Murray RM. Cannabis use and psychiatric and cognitive disorders: the chicken or the egg? *Curr Opin Psychiatry.* 2007;20:228-34.
- [3] Krystal JH, D'Souza DC, Madonick S, Petrakis IL. Toward a rational pharmacotherapy of comorbid substance abuse in schizophrenic patients. *Schizophr Res.* 1999;35 Suppl:S35-49.
- [4] Muller-Vahl KR, Emrich HM. Cannabis and schizophrenia: towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia. *Expert Rev Neurother.* 2008;8:1037-48.
- [5] Gardner EL, Paredes W, Smith D, Donner A, Milling C, Cohen D, et al. Facilitation of brain stimulation reward by delta 9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology (Berl).* 1988;96:142-4.

- [6] Lepore M, Vorel SR, Lowinson J, Gardner EL. Conditioned place preference induced by delta 9-tetrahydrocannabinol: comparison with cocaine, morphine, and food reward. *Life Sci.* 1995;56:2073-80.
- [7] Braida D, Iosue S, Pegorini S, Sala M. Delta9-tetrahydrocannabinol-induced conditioned place preference and intracerebroventricular self-administration in rats. *Eur J Pharmacol.* 2004;506:63-9.
- [8] Fattore L, Cossu G, Martellotta CM, Fratta W. Intravenous self-administration of the cannabinoid CB1 receptor agonist WIN 55,212-2 in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2001;156:410-6.
- [9] Lecca D, Cacciapaglia F, Valentini V, Di Chiara G. Monitoring extracellular dopamine in the rat nucleus accumbens shell and core during acquisition and maintenance of intravenous WIN 55,212-2 self-administration. *Psychopharmacology (Berl).* 2006;188:63-74.
- [10] Vlachou S, Nomikos GG, Panagis G. WIN 55,212-2 decreases the reinforcing actions of cocaine through CB1 cannabinoid receptor stimulation. *Behav Brain Res.* 2003;141:215-22.
- [11] Vlachou S, Nomikos GG, Panagis G. CB1 cannabinoid receptor agonists increase intracranial self-stimulation thresholds in the rat. *Psychopharmacology (Berl).* 2005;179:498-508.
- [12] Vlachou S, Nomikos GG, Stephens DN, Panagis G. Lack of evidence for appetitive effects of Delta 9-tetrahydrocannabinol in the intracranial self-stimulation and conditioned place preference procedures in rodents. *Behav Pharmacol.* 2007;18:311-9.
- [13] Sanudo-Pena MC, Tsou K, Delay ER, Hohman AG, Force M, Walker JM. Endogenous cannabinoids as an aversive or counter-rewarding system in the rat. *Neurosci Lett.* 1997;223:125-8.



- [14] Mallet PE, Beninger RJ. Delta9-tetrahydrocannabinol, but not the endogenous cannabinoid receptor ligand anandamide, produces conditioned place avoidance. *Life Sci.* 1998;62:2431-9.
- [15] Cheer JF, Kendall DA, Marsden CA. Cannabinoid receptors and reward in the rat: a conditioned place preference study. *Psychopharmacology (Berl)*. 2000;151:25-30.
- [16] Chaperon F, Soubrie P, Puech AJ, Thiebot MH. Involvement of central cannabinoid (CB1) receptors in the establishment of place conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 1998;135:324-32.
- [17] Fokos S, Panagis G. Effects of delta9-tetrahydrocannabinol on reward and anxiety in rats exposed to chronic unpredictable stress. *J Psychopharmacol*. 2010;24:767-77.
- [18] Polissidis A, Chouliara O, Galanopoulos A, Marselos M, Papadopoulou-Daifoti Z, Antoniou K. Behavioural and dopaminergic alterations induced by a low dose of WIN 55,212-2 in a conditioned place preference procedure. *Life Sci.* 2009;85:248-54.
- [19] Braida D, Pozzi M, Parolaro D, Sala M. Intracerebral self-administration of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in the rat: interaction with the opioid system. *Eur J Pharmacol*. 2001;413:227-34.
- [20] Valjent E, Maldonado R. A behavioural model to reveal place preference to delta 9-tetrahydrocannabinol in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2000;147:436-8.
- [21] Arnold JC, Boucher AA, Karl T. The yin and yang of cannabis-induced psychosis: the actions of Delta(9)-tetrahydrocannabinol and cannabidiol in rodent models of schizophrenia. *Curr Pharm Des*. 2012;18:5113-30.

- [22] Lipska BK, Jaskiw GE, Weinberger DR. Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic hippocampal damage: a potential animal model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 1993;9:67-75.
- [23] Lipska BK, Weinberger DR. To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology*. 2000;23:223-39.
- [24] Elmer GI, Brockington A, Gorelick DA, Carrol FI, Rice KC, Matecka D, et al. Cocaine cross-sensitization to dopamine uptake inhibitors: unique effects of GBR12909. *Pharmacol Biochem Behav*. 1996;53:911-8.
- [25] Davis CM, Roma PG, Dominguez JM, Riley AL. Morphine-induced place conditioning in Fischer and Lewis rats: acquisition and dose-response in a fully biased procedure. *Pharmacol Biochem Behav*. 2007;86:516-23.
- [26] Alquicer G, Silva-Gomez AB, Peralta F, Flores G. Neonatal ventral hippocampus lesion alters the dopamine content in the limbic regions in postpubertal rats. *Int J Dev Neurosci*. 2004;22:103-11.
- [27] Conroy SK, Rodd Z, Chambers RA. Ethanol sensitization in a neurodevelopmental lesion model of schizophrenia in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2007;86:386-94.
- [28] Chambers RA, Taylor JR. Animal modeling dual diagnosis schizophrenia: sensitization to cocaine in rats with neonatal ventral hippocampal lesions. *Biol Psychiatry*. 2004;56:308-16.
- [29] Wan RQ, Giovanni A, Kafka SH, Corbett R. Neonatal hippocampal lesions induced hyperresponsiveness to amphetamine: behavioral and in vivo microdialysis studies. *Behav Brain Res*. 1996;78:211-23.
- [30] Crawley JN. Attenuation of dark-induced hyperlocomotion by a cholecystokinin antagonist in the nucleus accumbens. *Brain Res*. 1988;473:398-400.

- [31] Goto Y, O'Donnell P. Delayed mesolimbic system alteration in a developmental animal model of schizophrenia. *J Neurosci.* 2002;22:9070-7.
- [32] Rompre PP, Miliaressis E. A comparison of the excitability cycles of the hypothalamic fibers involved in self-stimulation and exploration. *Physiol Behav.* 1980;24:995-8.
- [33] Wise RA, Bozarth MA. A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev.* 1987;94:469-92.
- [34] Drews E, Schneider M, Koch M. Effects of the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 on operant behavior and locomotor activity in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005;80:145-50.
- [35] Jarbe TU, Ross T, DiPatrizio NV, Pandarinathan L, Makriyannis A. Effects of the CB1R agonist WIN-55,212-2 and the CB1R antagonists SR-141716 and AM-1387: open-field examination in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006;85:243-52.
- [36] Pandolfo P, Pamplona FA, Prediger RD, Takahashi RN. Increased sensitivity of adolescent spontaneously hypertensive rats, an animal model of attention deficit hyperactivity disorder, to the locomotor stimulation induced by the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2. *Eur J Pharmacol.* 2007;563:141-8.
- [37] Polissidis A, Galanopoulos A, Naxakis G, Papahatjis D, Papadopoulou-Daifoti Z, Antoniou K. The cannabinoid CB1 receptor biphasically modulates motor activity and regulates dopamine and glutamate release region dependently. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2013;16:393-403.
- [38] Wise RA, Rompre PP. Brain dopamine and reward. *Annu Rev Psychol.* 1989;40:191-225.

- [39] Vezina P, Blanc G, Glowinski J, Tassin JP. Opposed Behavioural Outputs of Increased Dopamine Transmission in Prefrontocortical and Subcortical Areas: A Role for the Cortical D-1 Dopamine Receptor. *Eur J Neurosci.* 1991;3:1001-7.
- [40] O'Neill KA, Liebman JM. Unique behavioral effects of the NMDA antagonist, CPP, upon injection into the medial pre-frontal cortex of rats. *Brain Res.* 1987;435:371-6.
- [41] Jentsch JD, Tran A, Taylor JR, Roth RH. Prefrontal cortical involvement in phencyclidine-induced activation of the mesolimbic dopamine system: behavioral and neurochemical evidence. *Psychopharmacology (Berl).* 1998;138:89-95.
- [42] Spence SJ, Silverman JA, Corbett D. Cortical and ventral tegmental systems exert opposing influences on self-stimulation from the prefrontal cortex. *Behav Brain Res.* 1985;17:117-24.
- [43] Beninger RJ, Tuerke KJ, Forsyth JK, Giles A, Xue L, Boegman RJ, et al. Neonatal ventral hippocampal lesions in male and female rats: effects on water maze, locomotor activity, plus-maze and prefrontal cortical GABA and glutamate release in adulthood. *Behav Brain Res.* 2009;202:198-209.
- [44] O'Donnell P, Lewis BL, Weinberger DR, Lipska BK. Neonatal hippocampal damage alters electrophysiological properties of prefrontal cortical neurons in adult rats. *Cereb Cortex.* 2002;12:975-82.
- [45] Lupica CR, Riegel AC, Hoffman AF. Marijuana and cannabinoid regulation of brain reward circuits. *Br J Pharmacol.* 2004;143:227-34.
- [46] Prus AJ, James JR, Rosecrans JA. Conditioned Place Preference. In: Buccafusco JJ, editor. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*, Boca Raton (FL)2009.

- [47] Vlachou S, Panagis G. Regulation of Brain Reward by the Endocannabinoid System: A critical Review of Behavioral Studies in Animals. *Curr Pharm Des.* 2013.
- [48] Viveros MP, Marco EM, File SE. Endocannabinoid system and stress and anxiety responses. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005;81:331-42.
- [49] Parker LA, Gillies T. THC-induced place and taste aversions in Lewis and Sprague-Dawley rats. *Behav Neurosci.* 1995;109:71-8.
- [50] Pandolfo P, Vendruscolo LF, Sordi R, Takahashi RN. Cannabinoid-induced conditioned place preference in the spontaneously hypertensive rat-an animal model of attention deficit hyperactivity disorder. *Psychopharmacology (Berl).* 2009;205:319-26.
- [51] French ED, Dillon K, Wu X. Cannabinoids excite dopamine neurons in the ventral tegmentum and substantia nigra. *Neuroreport.* 1997;8:649-52.
- [52] Wise RA. Dopamine, learning and motivation. *Nat Rev Neurosci.* 2004;5:483-94.
- [53] Pistis M, Perra S, Pillolla G, Melis M, Muntoni AL, Gessa GL. Adolescent exposure to cannabinoids induces long-lasting changes in the response to drugs of abuse of rat midbrain dopamine neurons. *Biol Psychiatry.* 2004;56:86-94.
- [54] Lammel S, Lim BK, Ran C, Huang KW, Betley MJ, Tye KM, et al. Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area. *Nature.* 2012;491:212-7.
- [55] Pistis M, Porcu G, Melis M, Diana M, Gessa GL. Effects of cannabinoids on prefrontal neuronal responses to ventral tegmental area stimulation. *Eur J Neurosci.* 2001;14:96-102.

## ***Figures captions***

**Fig.1:** Schema 3-days cycle procedure of conditioned place preference. Abbreviations: H, Habituation days; B, Baseline test; D, Drug injection days; V, Vehicle injection days; T, Test days. In the case of control animals, they received vehicle injections on both D and V days.

**Fig.2:** Histology. **(a)** Schematic representation of the areas affected by the lesion. Our ventral hippocampus lesion spread from -4.16 mm to -5.6 mm from bregma. The *gray area* represents the smallest lesions, the *black areas* the medium lesions and the *lines areas* the largest lesions we have selected for our studies. **(b)** Photographs of coronal Nissl stained sections showing the hippocampus area in sham (S) and lesioned (L) animals at PD35 and PD56. The lesioned hippocampus is characterized by cell loss and enlarged ventricles in comparison to sham.

**Fig.3:** Locomotor activities in response to novelty **(a. and c.)** and in response to a mild stress by saline injection **(b. and d., 1 ml/kg, i.p)** in sham (*open circles*) and lesioned (*filled circles*) rats at PD35 (top panels) and PD56 (bottom panels). The number of animals for each experiment is as follow: **a and b**, n=20 sham and 21 lesioned rats; **c and d**, n=45 sham and 25 lesioned rats. The major panels show the distance travelled (m) over 30 min, the inset panels show the total distance travelled during the 30 min session. \* Significant difference ( $p < 0.05$ ) sham vs lesioned rats.

**Fig.4:** Amphetamine-induced locomotor activity **(a and c-0.75 mg/kg, i.p, b and d-1.5 mg/kg, i.p)** in sham (*open circles*) and lesioned (*filled circles*) rats at PD35 (top panels) and PD56 (bottom panels). The number of animals for each experiment is as follow: **a**, n=8 sham and 8 lesioned rats; **b**, n=12 sham and 13 lesioned rats; **c**, n=27 sham and 19 lesioned; **d**, n=18 sham

and 6 lesioned rats. The major panels show the distance travelled (m) over 90 min, the inset panels show the total distance travelled during the 90 min session. \* Significant difference ( $p < 0.05$ ) sham vs lesioned rats.

**Fig.5:** WIN-induced locomotor activity (1 mg/kg, i.p) in sham and lesioned rats at PD35 and PD56. These graphs represent the ambulatory activity (**a and e**), the non-ambulatory activity (**b and f**) and vertical activity (**c and g**). The white bars indicate the vehicle-treated animal, the black bars indicated the WIN-treated animals. The number of animals for each experiment is as follow: (**a, b, and c**) vehicle-treated : n= 5 sham and 4 lesioned, WIN-treated : n=6 shams and 4 lesioned; (**e, f, and g**) vehicle treated : n=4 sham and 6 lesioned, WIN-treated : n=6 sham and 4 lesioned. \*\* Significant difference ( $p < 0.01$ ) vehicle vs WIN-treated lesioned rats, + significant difference ( $p < 0.05$ ) WIN-treated sham vs WIN-treated lesioned rats.

**Fig.6:** Effects of THC (0.5 mg/kg, i.p) on CPP in sham and lesioned animals at PD35 and PD56. The number of animals for each treatment (Vehicle, *white bars*; THC, *black bars*) is as follow: **a**, n=12 vehicle and 12 THC; **b**, n=10 vehicle and 9 THC; **c**, n=22 vehicle and 14 THC; **d**, n=17 vehicle and 16 THC. The major panels illustrate the time spent in the preferred compartment at each of the three preference tests (T1, T2, and T3) minus pre-conditioning time (expressed in %) for sham (**a and c**) and lesioned (**b and d**) rats. The inset panels shown the time spent in the neutral compartment at each of the three preference tests (T1, T2, and T3) minus pre-conditioning time (expressed in %). \* Significant difference ( $p < 0.05$ ) of the total effect between vehicle-treated and THC-treated sham rats in the neutral compartment.

**Fig.7:** Effects of WIN (1 mg/kg, i.p) on CPP in sham and lesioned animals at PD35 and PD56. The number of animals for each treatment (Vehicle, *white bars*; WIN, *black bars*) is as follow: **a**, n=12 vehicle and 14 WIN; **b**, n=7 vehicle and 13 WIN; **c**, n=9 vehicle and 11 WIN; **d**, n=5 vehicle and 5 WIN. The major panels illustrate the time spent in the preferred compartment at each of the three preference tests (T1, T2, and T3) minus pre-conditioning time (expressed in %) for sham (**a and c**) and lesioned (**b and d**) rats. The insert panels shown the time spent in the neutral compartment at each of the three preference tests (T1, T2, and T3) minus pre-conditioning time (expressed in %). Significant difference ( $p < 0.05$ ) of the total effect has been observed between vehicle-treated and WIN-treated lesioned rats in the preferred compartment.

**Fig.S1:** The induction of a conditioned place-preference (CPP) to amphetamine was tested with two different groups of normal rats using the procedure described in the method section. Briefly, on the day following the baseline test (Day 4), one group of rats were injected with saline (n = 9) the other with dextro-amphetamine (2 mg/kg, ip; n = 11) and placed into the non-preferred compartment for 30 min; the next day both groups were injected with saline and placed into the preferred compartment for 30 min. On day 6, a CPP was run (T1). This sequence was repeated twice so that two additional CPP tests were run (T2 and T3). Results show that, at each CPP test, rats conditioned with amphetamine spent significantly more time (different post- and pre-time in percentage, mean  $\pm$  sem) in the non-preferred compartment than those conditioned with vehicle at each CPP test (ANOVA  $F_{1,18} = 5.1$ ,  $p < 0.05$ ). See text for details.



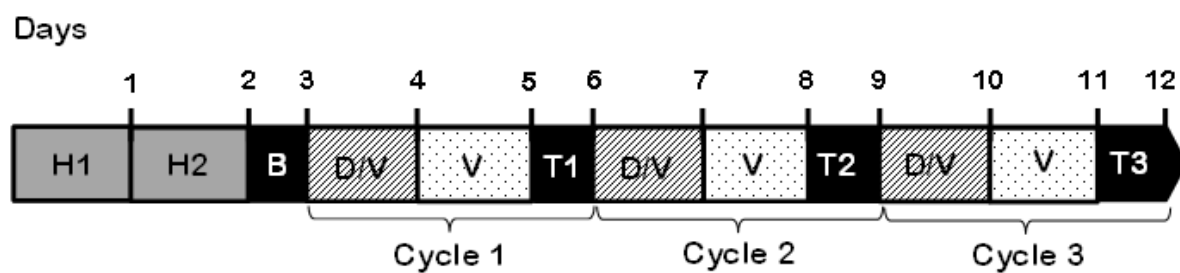


Fig. 1

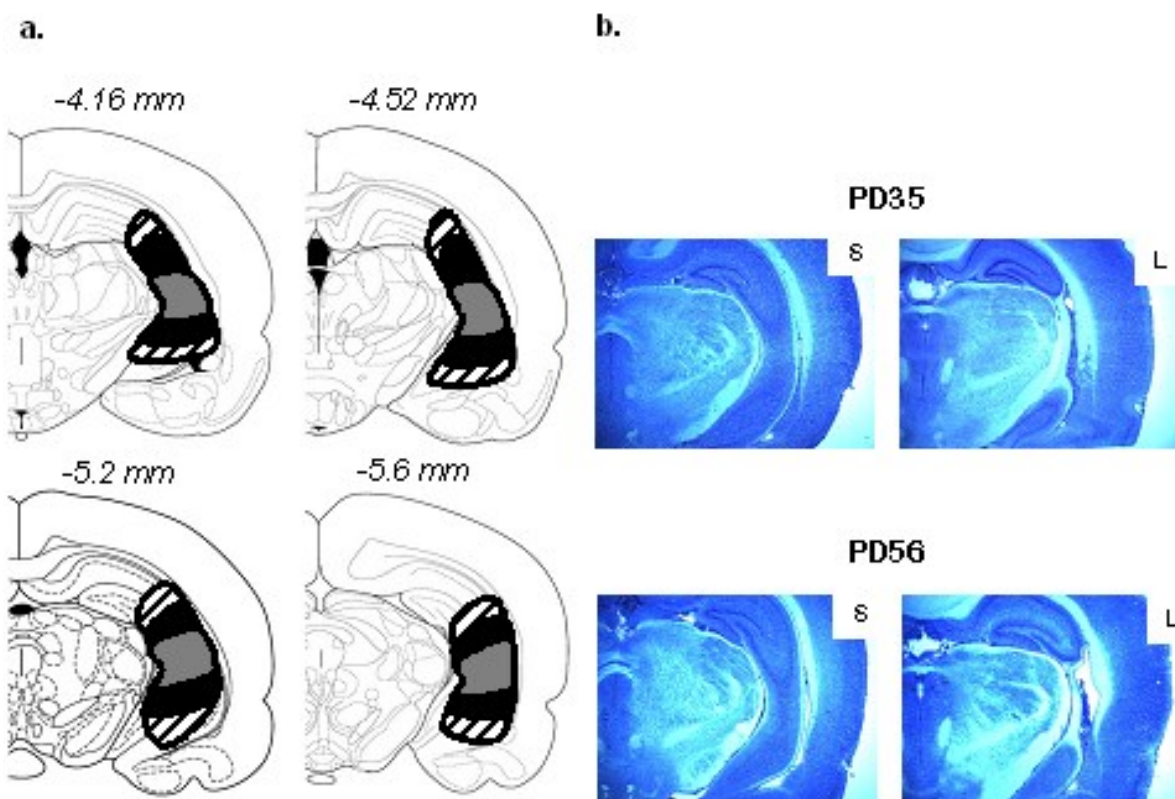
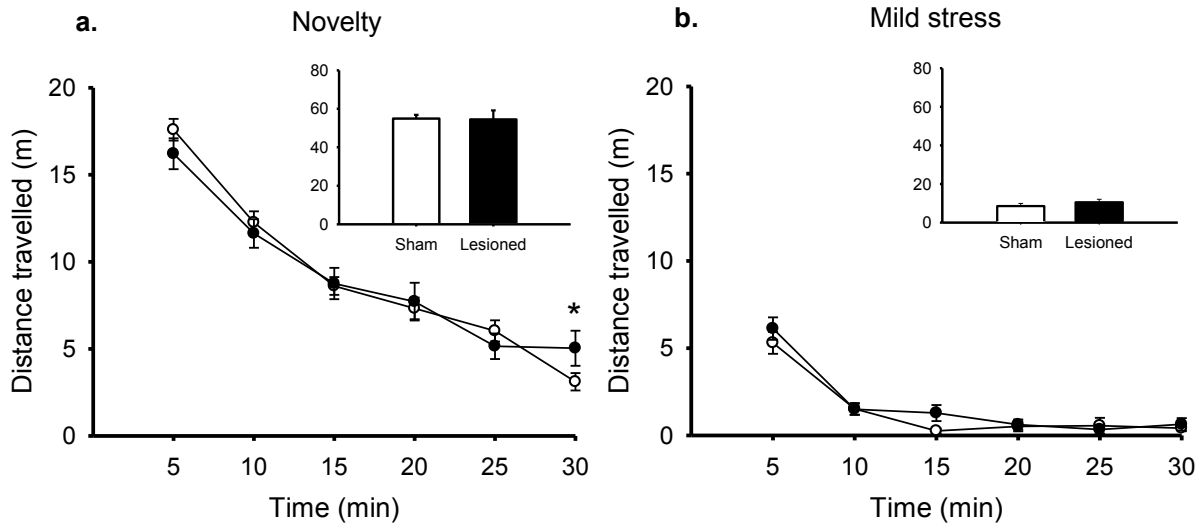
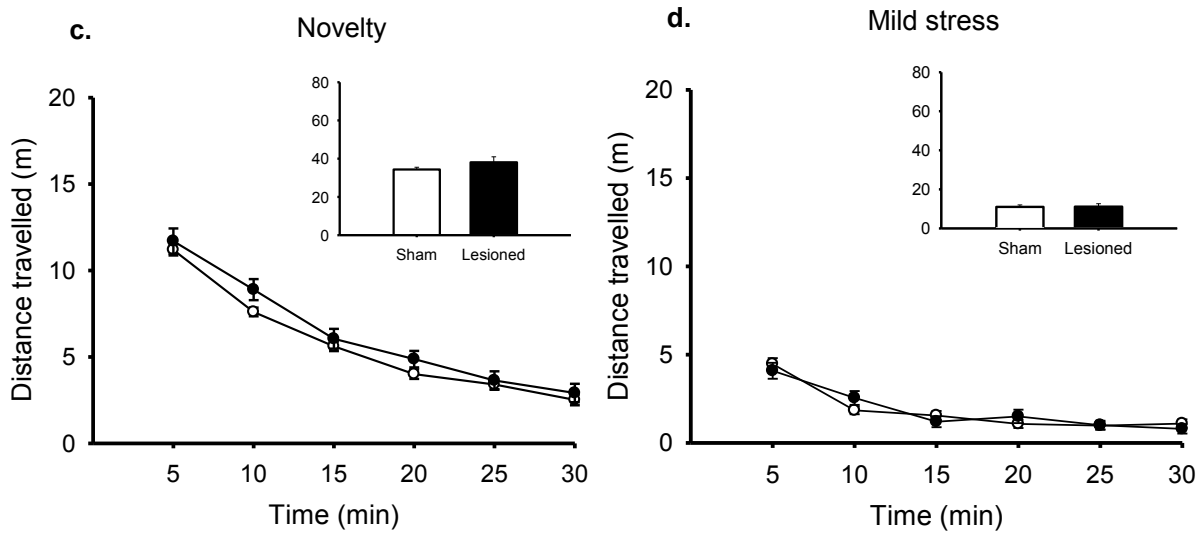


Fig. 2

## PD35

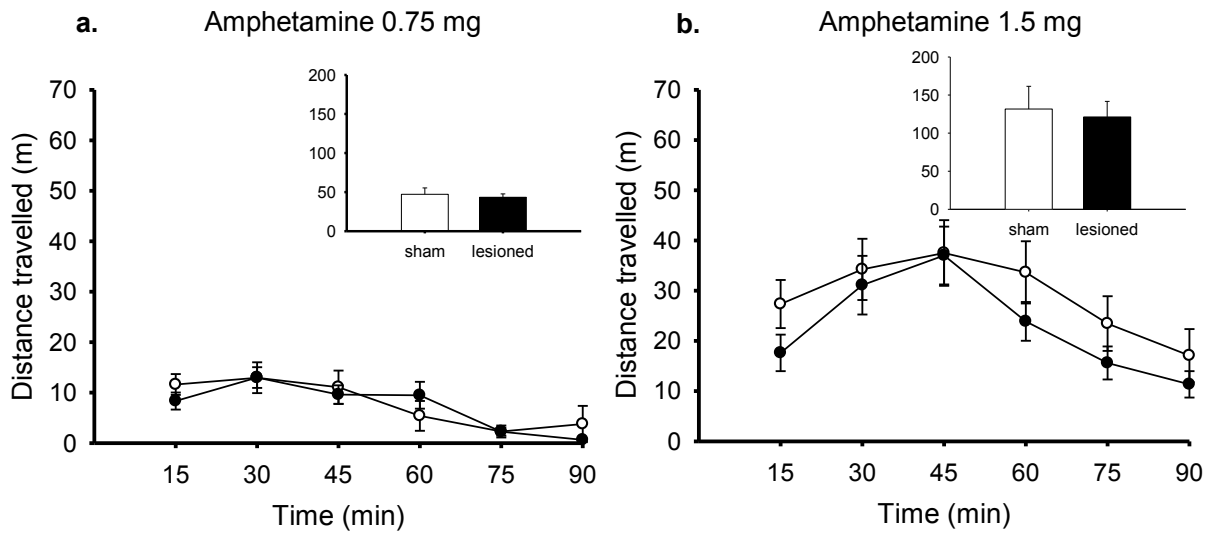


## PD56

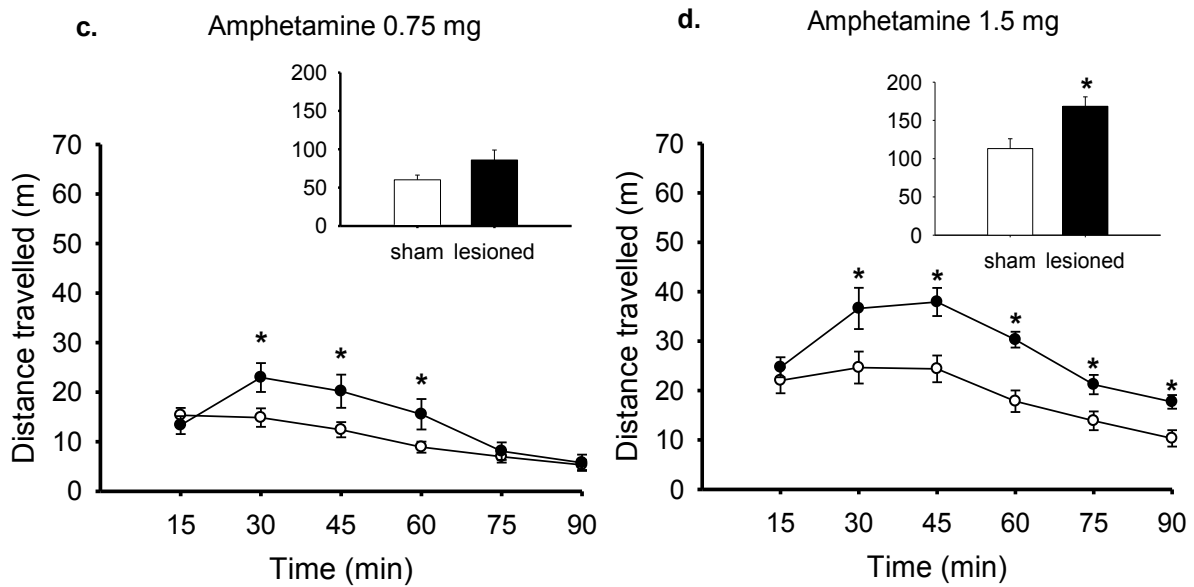


**Fig. 3**

## PD35

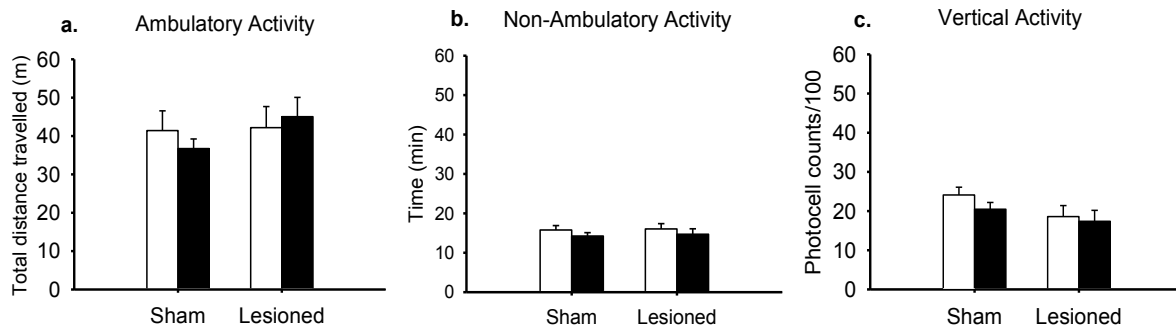


## PD56

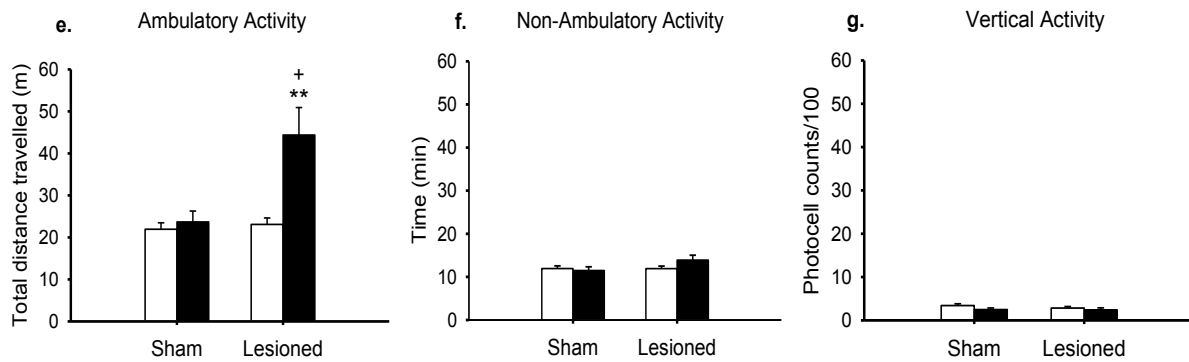


**Fig. 4**

## PD35

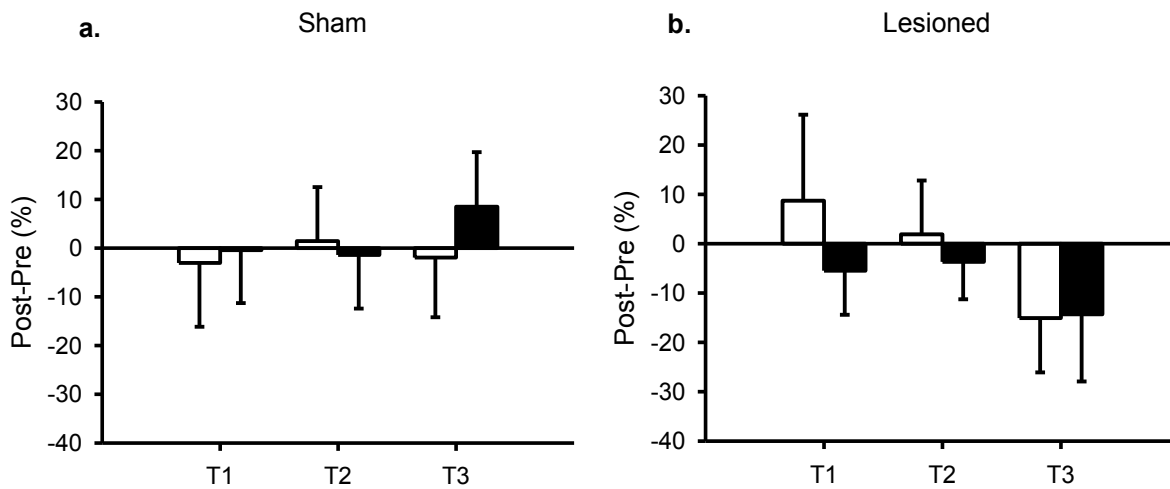


## PD56

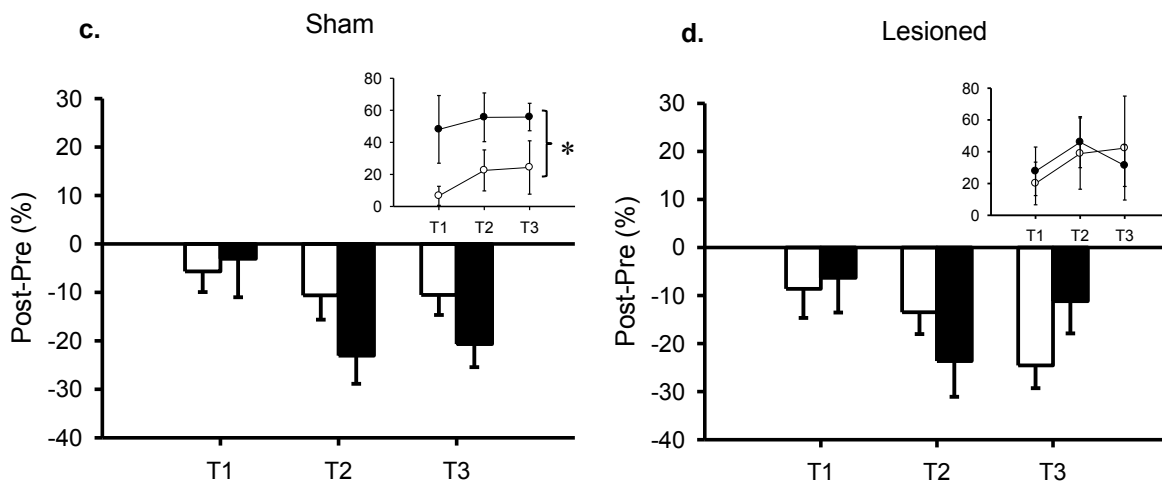


**Fig. 5**

## PD35

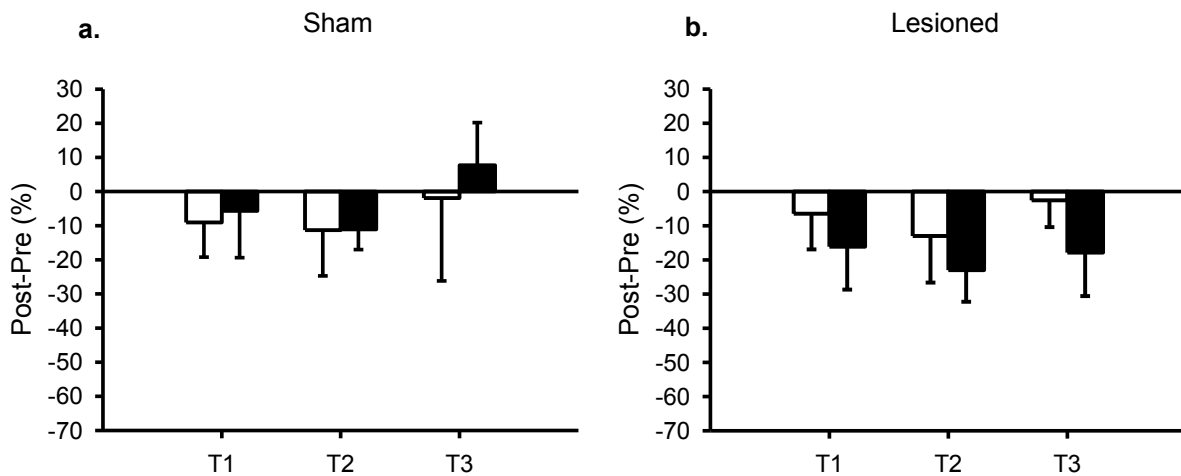


## PD56

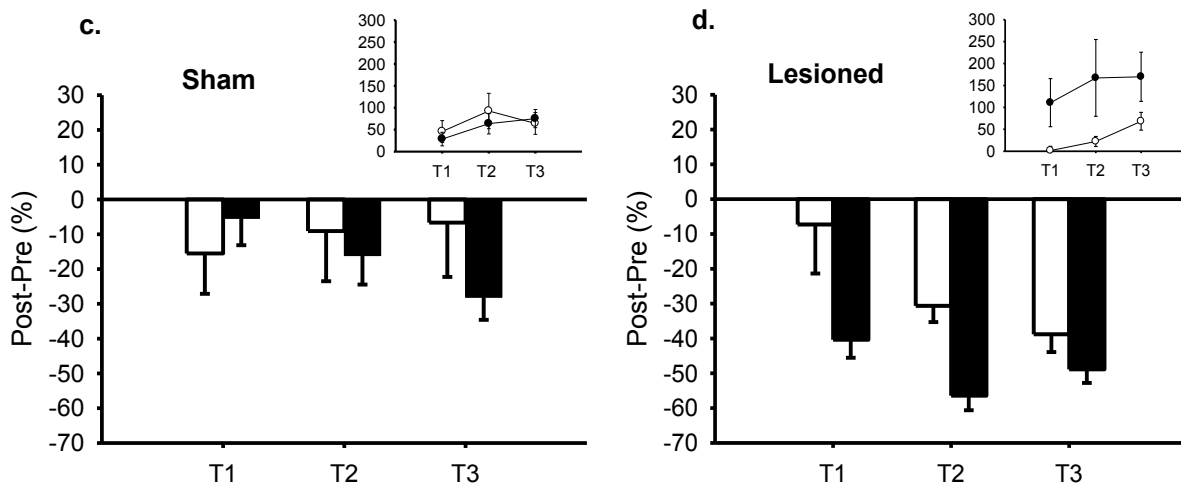


**Fig. 6**

## PD35

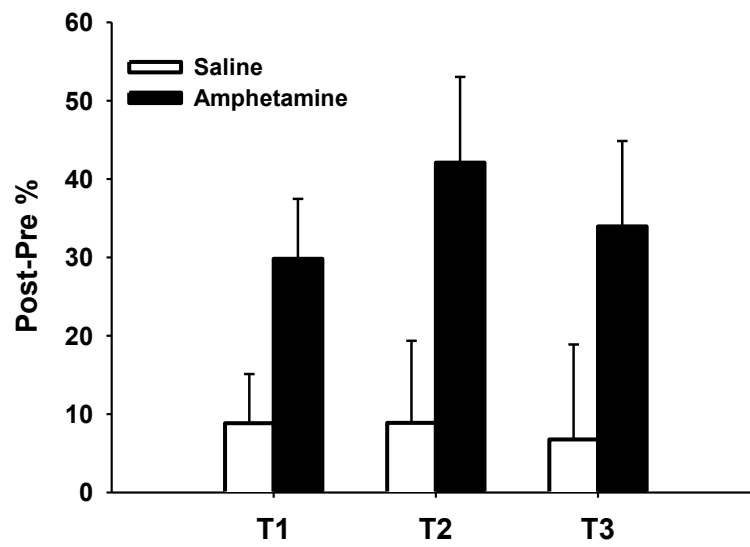


## PD56



**Fig. 7**

**Amphetamine-induced  
a conditioned place preference**



**Fig.S1**

### 3. Article 2

Dans cet article, notre but était de renforcer les résultats obtenus dans notre premier article par l'évaluation de l'impact des cannabinoïdes sur un modèle comportemental opérant : l'autostimulation intracérébrale (ASI). En effet, ce modèle demande à l'animal d'introduire son museau dans un orifice muni d'une cellule photo-électrique pour déclencher une stimulation électrique intracérébrale renforçante. L'administration de drogues est connue pour altérer ce comportement (**Figure II-6 section 2.3 Méthodologie illustrée**). Les variations qui en résultent nous permettent ainsi de conclure sur le potentiel renforçant ou aversif de la substance. À notre connaissance, aucune étude ne rendant compte de ces effets, ce papier constitue de nouveau une étude originale. L'ensemble de ces expériences ont été réalisées chez le rat adulte seulement. Bien que la comparaison équivalente avec notre précédente étude de PPC aurait été intéressante, le temps de récupération après la chirurgie ( $\pm 5$  jours), l'entraînement (minimum 15 jours dans des conditions optimales si l'animal ne reçoit qu'une injection) et la fenêtre de temps restreinte de l'âge ne nous a pas permis d'effectuer ces expériences chez le rat adolescent (PD28-40).

Les mêmes doses que dans l'article 1 ont été utilisées pour cet article. La possibilité de tester l'impact de plusieurs injections sur un même animal avec ce paradigme, nous a permis de réaliser une dose-réponse avec le WIN et de tester le caractère dépendant de CB1 de cette réponse via l'injection de l'antagoniste AM251. L'absence de dose-réponse avec le THC est due à des problèmes d'approvisionnement de celle-ci.



# ARTICLE 2

## soumis à **European Neuropharmacology**

*Cannabinoids reward sensitivity in a neurodevelopmental animal model of schizophrenia : a brain stimulation reward study*

Alexandra Gallo<sup>a</sup>, Claude Bouchard<sup>b</sup>, Emmanuel Fortier<sup>b</sup>, Charles Ducrot<sup>b</sup>, and Pierre-Paul Rompré<sup>b,c\*</sup>

<sup>a</sup> Faculté de médecine, Département de Psychiatrie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

<sup>b</sup> Faculté de médecine, Département de Neurosciences, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

<sup>c</sup>FRQ-S Research Center in Behavioural Neurobiology, Concordia University, Montréal, Québec, Canada.

Running title: Cannabinoid reward and animal model of schizophrenia

**\*Corresponding author at :**

Département de neurosciences  
Université de Montréal  
C.P. 6128, Succ Centre-Ville  
Montréal, Québec  
H3C 3J7

## ***Abstract***

The comorbidity schizophrenia and cannabis has a high prevalence. The consumption of cannabis is ten times higher among schizophrenia patients, suggesting that these patients could be differentially sensitive to its motivational effects. To study this question, we investigated the motivational effects of cannabinoid agonists using the brain stimulation reward paradigm and a neurodevelopmental model of schizophrenia: neonatal ventral hippocampus lesions (NVHL). Using the curve-shift paradigm, we first compared the effect single dose (0.75 mg/kg) of amphetamine in sham and NVHL rats on reward and operant responding. Then, in different groups of NVHL and sham rats, we studied the effect of delta-9-tetrahydrocannabinol (THC, 0.5 mg/kg, i.p) and WIN55,212-2 (WIN, 1 and 3 mg/kg, i.p.) Rats were initially trained to self-administer an electrical stimulation to the posterio-medial mesencephalon. Once responding was stable, reward threshold defined as the frequency required to induce a half maximum response rate was measured before and after injection of the drug or the vehicle. Results show that amphetamine enhanced reward in sham and NVHL rats, an effect that was shorter in duration in NVHL rats. THC produced a weak attenuation of reward in sham rats while WIN produced a dose-dependent attenuation in NVHL; the attenuation effect of WIN was blocked by the cannabinoid antagonist, AM251. WIN also produced an attenuation of performance in sham and NVHL rats, and this effect was partially prevented by AM251. These results provide the additional evidence that the motivational effect of cannabinoids is altered in animals with a schizophrenia-like phenotype.

**Keywords :** amphetamine; animal model; brain stimulation reward; cannabinoids; schizophrenia.

## ***Introduction***

The prevalence of drug use among schizophrenia patients is more than 50 % and for cannabis it is ten time higher than the global population (Koskinen et al., 2009)(World drug report 2012). According to the self-medication hypothesis, these patients consume cannabis to alleviate their symptoms and reduce the unpleasant secondary effects of their medication. This hypothesis, however, has received weak empirical support and it was observed that cannabis aggravates rather than improves their psychotic symptoms (Voruganti et al., 2001). Some recent studies have shown that the endocannabinoid system is dysregulated in schizophrenia (Potvin et al., 2008) (for review (Muller-Vahl and Emrich, 2008)) suggesting that schizophrenia patients may be differentially sensitive to the psychotropic effects of cannabis.

Studies carried out with normal naïve animals have demonstrated that cannabinoids induce either a rewarding or an aversive effect (for review, (Vlachou and Panagis, 2013)), results that are consistent with human studies (Green et al., 2003). Rats can be trained to self-administer intravenously the potent cannabinoid agonist, WIN55,212-2 (WIN); this operant response is accompanied by an increase in ventral striatal dopamine release, a neurochemical effect that is most often associated with reward (Fattore et al., 2001; Lecca et al., 2006). Consistently, delta9-tetrahydrocannabinol (THC), the major psychoactive component of cannabis, enhances reward induced by brain electrical stimulation (Gardner et al., 1988; Lepore et al., 1996). Other studies, however, have reported that WIN produced a significant attenuation of brain stimulation reward (Vlachou et al., 2003, 2005). It was also reported that THC and WIN induce either a conditioned place-aversion (Chaperon et al., 1998; Cheer et al., 2000; Mallet and Beninger, 1998; Sanudo-Pena et al., 1997) or a conditioned place-preference (Lepore et

al., 1995). The lack of consistency between studies is generally attributed to differences in methodology, rat strains, doses and the type of cannabinoid agent used.

In view of this, it can be hypothesized that schizophrenia patients consume cannabis because they are differently sensitive to its rewarding and/or aversive effects. Although the comorbidity schizophrenia and cannabis has been widely investigated in human, only one study has been carried out to investigate the motivational effect of cannabinoids using an animal model of schizophrenia (Gallo et al., submitted). In the present study, we further addressed this issue using the neonatal ventral hippocampus lesion (NVHL) model developed by Lipska and Weinberger (Lipska et al., 1993). We investigated the valence of the motivational effect of THC and WIN in adult NVHL rats using the brain stimulation reward paradigm. Since it was consistently found that NVHL rats were more sensitive to the hyperlocomotion effect induced by amphetamine, we also compared the reward enhancing effect of amphetamine in sham and NVHL rats. Results show that the reward enhancing effect of amphetamine is shorter in duration in NVHL rats, and that WIN is acting at CB1 receptors to produce a significant attenuation of reward in NVHL but not in sham rats. These results provide additional evidence that rats with a schizophrenia-like phenotype are more sensitive to the aversive effect of CB1 receptor activation.

## ***Methods***

### **Animals**

Female Sprague-Dawley rats (Charles River Canada) were purchased at 15-17 days of gestation and housed individually in breeding cages in temperature and humidity-controlled room with a 12h light/dark cycle (22 °C, 40 %, 6 am/6 pm). They have free access to food and

water. Six to 18 pups were obtained per litter. Female pups were culled just before surgery to keep male pups between 15-18 g at PD6-7. All experimental procedures were performed in accordance with the Canadian Council on Animal Care Guide.

## **Surgical procedures**

### *Neonates*

On the 6<sup>th</sup> or 7<sup>th</sup> day of age, male pups were anesthetised by isoflurane inhalation (induction 5%, maintenance 1-2 %, 1-2 L/min O<sub>2</sub>) and placed on a stereotaxic instrument adapted for small animals. The skull was exposed and a burr hole was made at the point of entrance of the injection cannula (0.3 mm o.d.) in each hemisphere. The injection cannula was lowered into the left and right ventral hippocampal formation at the following stereotaxic coordinates: 3.0 mm posterior to bregma, 3.5 mm lateral to the sagittal line and 4.5 mm below the surface of the cranium. It was connected with polyethylene tubing to a 10 µl microsyringe and a volume of 0.3 µl of a solution containing 5 µg/µl of ibotenic acid was injected with a micro-infusion pump over a period of 2 minutes; the injection cannula was left in place for an additional minute to allow diffusion of the solution into the tissue. The incision was closed with Vetbond (CDMV, Canada) and the pups were allowed to recover on a heating pad; upon awakening they were returned to their mother. For sham rats, identical surgical procedures were applied with the exception that the injection cannula was not inserted into the brain to prevent damage to the brain and to control for stress related to the procedures. Animals were weaned at PD21 and housed 2-3/cage; each group contained at least one sham and one NVHL rat.

## *Adults*

At PD40-46, sham and NVHL rats were anaesthetised by isoflurane (2.5-3.5%, 0.6L/min O<sub>2</sub>) and placed on a stereotaxic apparatus. A burr hole was made at the point of insertion of the stimulation electrode and four stainless steel screws were threaded into the skull to wrap a stainless steel wire that served as the inactive electrode. A moveable stimulation electrode (Miliaressis, 1981) made from 0.27 mm stainless steel wire insulated with Epoxy (except around the round tip) was lowered into the postero-median mesencephalon using the following flat skull coordinates: 7.6 mm posterior to bregma, 0.0 mm lateral to the sagittal line and 6.6 mm below the surface of the skull (Paxinos and Watson, 1986). The electrode assembly was fixed to the skull with dental acrylic. As post-surgical cares, we injected intramuscularly an antibiotic (Duplocillin LA, 15,000 I.U., CDMV) and subcutaneously an analgesic (Anafen, 5 mg/kg, CDMV).

## **Brain stimulation reward training**

Five to seven days after surgery, rats were placed in test cages (25 x 25 cm) made from polymer walls and one front Plexiglas wall that allowed observation. To reduce disturbance from external noise, test cages were encased in ventilated melamine boxes. Each test cage was equipped with an infrared photocell inside an opening (3 cm diameter and 3 cm deep) located 2 cm above the wire-mesh floor. Using a procedure previously described (Bergeron and Rompré, 2013), rats were first trained to produce an operant response (nose poke) to trigger a constant-current pulse generator that delivered to a single 400 ms train of 0.1 ms cathodal rectangular pulses (Mundl, 1980). If the stimulation did not induce an exploratory behaviour and an approach towards the hole so that the rat did not learn the task, the electrode was

lowered by 0.2 or 0.4 mm with a micro-drive and the new site was tested on the next day. The electrode was lowered until the rat learned the task. Once responding was established, rats were trained to respond during a 55 s discrete trial followed by an interval of 15 s during which the stimulation was not available. The beginning of each trial was signalled by 5 trains of non-contingent priming stimulation delivered at a rate of one per second. With the current maintained constant, stimulation frequency was varied from 100 to 30 Hz in 0.06-0.09 log unit steps to generate a curve relating the number of nose pokes per trial as a function of stimulation frequency (R/F curve). The number of responses during the first 5 s of each trial was considered as an adaption and responses were not counted. From each R/F curve, we inferred an index of reward threshold that corresponds to the stimulation frequency sustaining a half-maximal rate of responding (M50). The current intensity was set for each rat to generate a M50 value between 45 and 55 Hz.

### *Drugs and vehicle tests*

For the THC and amphetamine studies, four independent groups were tested: two groups of sham and two groups of NVHL rats receiving a first injection of either vehicle or THC (0.5 mg/kg) and a second injection of d-amphetamine (0.75 mg/kg) one week later. On a drug or vehicle test day, four baseline R/F curves were first determined; the first one was considered as a warm-up and thus discarded. Then each rat was injected with the vehicle or the drug and five additional R/F curves were determined over a test period that lasted approximately 100 min. There was 4-5 days between consecutive vehicle and drug tests. Two separate series of tests were performed with WIN using the same procedure. A group of sham and a group of NVHL rats were first tested with two doses (1 and 3 mg/kg) of WIN and the

vehicle in counterbalanced order with, at least, 4 days between each test. A group of NVHL rats were tested in a counterbalanced order with AM251 (3 mg/kg), WIN (3 mg/kg), AM251+WIN and the vehicle; there is at least 4 days between each test.

## **Data analysis**

The mean changes in M50 (reward threshold) and maximal rate of responding (maximal rate of nose poke from each R/F curve) were first expressed as percentage of baseline value and group means were calculated for each treatment. They were analyzed with a one way or two-way ANOVA with repeated measures on time followed by Duncan's post-hoc test when required. Homogeneity of variances was tested with Levene's test and a square root or log data transformation was performed when necessary or Greenhouse-Geiser correction of degree of freedom was applied. Student's t-test was used to compare results after vehicle and drug at some specific time after the injection. The level of significance was set at 0.05.

## **Histology**

At the end of the experiments, rats were anesthetised with isoflurane (4-5%, 0.6L/min O<sub>2</sub>) and the location of the stimulation site was marked by passing an anodal current of 0.1 mA during 60 s through the stimulation electrode. They were then decapitated, the brain removed, frozen with cold 2-methylbutane (99.2 %) and stored at -80 °C. The brains were subsequently sliced into 40 µm sections that were mounted on gelatine-coated glass slides. Slices were stained with thionin (Nissl technique) and the location of the stimulation site and the extent of the lesion (NVHL rats) for each rat was determined with a light microscope.



## Drugs

$\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC, Tocris UK) was dissolved into a vehicle solution composed of 2 % ethanol, 8 % polyethylenglycol-600 (Sigma-Aldrich, Canada) and 90 % NaCl solution (0.9 %). WIN55,212-2 mesylate salt and AM251 (Tocris USA or UK) were dissolved in a solution that contained 5 % dimethyl sulfoxide (Sigma-Aldrich, Canada), 5 % cremophor EL (Sigma-Aldrich, Canada) and 90 % NaCl solution (0.9 %). D-amphetamine sulfate (Tocris, UK) was dissolved in a 0.9 % NaCl solution and injected at the doses of 0.75 mg/kg of body weight. All drugs were injected intraperitoneally in volume of 1 (THC and amphetamine) or 3 ml/kg (WIN and AM251); testing began 5 (amphetamine, WIN) or 20 min (THC, AM251) after the injection.

## Results

### Histology

Histological analysis revealed that the stimulation sites were located on or near the midline (0.4 mm lateral) between the ventral border of the cerebral aqueduct and the tegmental or cerebellar decussation; they were found between the anterior-posterior level corresponding to 6.3 and 8.0 mm posterior to bregma (**Figure 1b, bottom panels**). This area contains a high density of reward-relevant neurons and consistently reliable self-stimulation behaviour was observed in all the rats tested (Rompre and Miliaressis, 1985). The analysis of the thionin-stained sections of NVHL rats revealed an atrophy of the ventral hippocampus between -4.16 to -6.0 mm posterior to bregma (**Figure 1a**) accompanied by an enlargement of the lateral ventricles (**Figure 1b, upper panels**). In addition to these damages, we noticed some gliosis

and cell loss that was limited to the ventral hippocampus, leaving the dorsal hippocampus untouched. Such an alteration of the hippocampus was not observed in sham rats.

### **Amphetamine enhances reward in sham and NVHL rats: different time course.**

At the dose tested, amphetamine produced a decrease in reward threshold in both sham and NVHL rats (**Figure 2a**), an effect that was accompanied by an increase in maximal response rate (**Figure 2b**). There was no significant difference between sham and NVHL rats (reward threshold:  $F_{(4,80)} = 2.0$ ,  $p > 0.05$ ; maximal response threshold:  $F_{(4,80)} = 1.33$ ,  $p > 0.05$ ). It can be seen, however, that reward threshold returned to baseline level faster in NVHL rats. A comparison of pre- and post-injection values from each group yielded a significant effect (sham:  $F_{(1.85,25.86)} = 5.66$ ,  $p < 0.02$ ; NVHL:  $F_{(1.43,8.59)} = 4.79$ ,  $p < 0.05$ ) and post-hoc comparison showed that reward threshold returned to baseline level at least 40 min earlier in NVHL rats (**Figure 2a**). A significant difference was found for maximum response rates in sham (sham:  $F_{(1.34,19.3)} = 4.48$ ,  $p < 0.05$ ) but not in NVHL rats (NVHL:  $F_{(1.21,7.25)} = 1.14$ ,  $p > 0.05$ ); the high variability of baseline maximum response rates in NVHL rats can explain the lack of significance (**Figure 2b**).

### **THC produces a weak attenuation of reward in sham but not NVHL rats.**

Rate-frequency curves obtained from two sham and two NVHL rats before and at three times after injection of vehicle and THC are shown in **Figure 3**. In the sham rat, THC produced a rightward displacement of the R/F curve with no change in maximum rates of responding, reflecting a selective attenuation of reward (**Figure 3d**); this effect was not evident after

vehicle injection (**Figure 3a**). In the NVHL rat, THC did not displace the R/F curve and did not change maximum response rate (**Figure 3d**); after vehicle injection the R/F curves slightly moved on the x- and the y-axis (**Figure 3b**). Group mean changes (in expressed in percent of baseline) in reward threshold and maximum response rate for sham and NVHL rats are shown in **Figure 4**. In NVHL rats, mean changes in reward threshold measured after THC overlap with that measured after vehicle indicating that THC produced no change in reward (**Figure 4b**). The ANOVA yielded no significant effect of treatment ( $F_{(1,12)} = 0.02$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by time interaction ( $F_{(4,48)} = 0.25$ ,  $p > 0.05$ ). Maximum response rate were slightly higher than baseline after the vehicle and remained near baseline after THC in NVHL rats (**Figure 4d**). The ANOVA yielded no significant effect of treatment ( $F_{(1,12)} = 0.78$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by time interaction ( $F_{(4,48)} = 0.16$ ,  $p > 0.05$ ). In sham rats, THC produced a late increase in reward threshold (**Figure 4a**), but the ANOVA yielded no significant effect of treatment ( $F_{(1,17)} = 3.45$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by time interaction ( $F_{(4,68)} = 2.08$ ,  $p > 0.05$ ). A comparison of reward threshold changes obtained after the vehicle and THC at 100 min revealed, however, a statistically significant difference hence confirming that THC produced a late attenuation of reward ( $t = 2.86$ ,  $df = 17$ ,  $p < 0.02$ ). This reward attenuation was not accompanied by a change in maximum response rate. There is an overlap between vehicle and THC curves (**Figure 4c**) and consistently, the ANOVA yielded no significant effect of treatment ( $F_{(1,17)} = 0.07$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by time interaction ( $F_{(4,68)} = 1.09$ ,  $p > 0.05$ ).

## **WIN produces opposite effects on reward in sham and NVHL rats.**

Rate-frequency curves obtained from one sham and one NVHL rat before and at three times after injection of vehicle and each dose of WIN are shown in **Figure 5**. In the NVHL rat, the high dose of WIN produced a large displacement of the R/F curve to the right with a small decrease in maximum response rate at 20 min (**Figure 5d**). Such reward attenuation was not seen at the lowest dose (data not shown) neither after vehicle injection (**Figure 5b**). Interestingly, WIN did not produce an attenuation of reward threshold in this sham rat. In fact there was a small leftward shift at the high dose (**Figure 5c**); but a somewhat similar shift can be seen after the vehicle injection, at a low number of pulses (**Figure 5a**).

Group mean changes in reward threshold and maximum response rate for both groups are shown in **Figure 6**. In sham rats, WIN tended to produce a small enhancement of the reward at the lowest dose early after the injection. The ANOVA yielded a significant treatment by time interaction ( $F_{(12,72)} = 2.18, p < 0.05$ ) and post-hoc test showed that this significant effect was due to a lower reward threshold at the low dose at 20 min and at 140 min at high dose (**Figure 6a**). The effect of WIN on maximum response rate was more pronounced. A dose-dependent reduction occurred early after the injection. The ANOVA yielded a significant interaction ( $F_{(12,72)} = 1.94, p < 0.05$ ) and post-hoc confirmed a significant suppression at 20 min at the low dose and at 20 and 40 min at the high dose (**Figure 6c**). An enhancement in reward was not seen in NVHL rats as WIN rather produced a dose-dependent increase in reward threshold that was maximal at the high dose at 20 min (**Figure 6b**). Due to the high variability across time and treatment the ANOVA yielded no significant effect of treatment ( $F_{(2,15)} = 0.97, p > 0.05$ ) and no treatment by time interaction ( $F_{(12,90)} = 1.06, p > 0.05$ ). However a comparison of

reward threshold obtained after vehicle and the high dose of WIN at 20 min revealed a significant difference ( $t = 2.28$ ,  $df = 10$ ,  $p < 0.05$ ; **inset Figure 6b**) hence confirming the effect of WIN on reward in NVHL rats differ from its effect in sham. It is interesting to notice that WIN tended to produce an effect on maximum response rate in NVHL similar to that in sham rats. The ANOVA yielded no significant effect of treatment ( $F_{(2,15)} = 1.45$ ,  $p > 0.05$ ) and no treatment by time interaction ( $F_{(12,90)} = 0.71$ ,  $p > 0.05$ ). However a comparison of maximum response rate changes obtained after vehicle and the high dose of WIN at 20 min revealed a significant difference ( $t = 2.45$ ,  $df = 10$ ,  $p < 0.05$ ; **inset Figure 6d**).

### **AM251 reverses the reward attenuation effect of WIN in NVHL rats**

In order to determine whether the early attenuation effect of the high dose of WIN on reward and maximum response rate in NVHL was due to activation of CB1 receptors, we tested the effect of AM251 against that of WIN. Group mean changes in reward threshold and maximum response rate obtained at 20 min are shown in **Figure 7**. The ANOVA yielded a significant effect ( $F_{(3,20)} = 5.3$ ,  $p < 0.01$ ) and post-hoc test showed that WIN produced a significant increase in threshold that was completely prevented by AM251 (**Figure 7a**). The ANOVA performed on maximum response rate data also yielded a significant effect ( $F_{(3,20)} = 4.76$ ,  $p < 0.02$ ) and post-hoc test confirmed that WIN suppressed maximum response rate and this effect was slightly attenuated but not reversed by AM251 (**Figure 7b**); AM251+WIN3 did not differ from vehicle and from WIN3 alone. At the dose tested, AM251 alone did not change reward nor maximum response rate.

## ***Discussion***

The present study represents the first investigation on the effects of amphetamine and cannabinoid agonists on brain stimulation reward (BSR) in an animal model of schizophrenia. Results that we obtained showed that the magnitude but not the duration of the reward enhancing effect of amphetamine was similar in sham and NVHL rats, and that activation of CB1 receptors produced a dose-dependent reward attenuation in NVHL but not in sham rats. The CB1/CB2 agonist, WIN, also produced a reduction in performance that was similar in sham and NVHL rats and that was not completely prevented by blockade of CB1 receptors.

Since this is the first study on BSR carried out with NVHL rats, it is relevant to mention that we observed no difference in overt behaviours between sham and NVHL rats during training and baseline responding. We also found no difference in the sensitivity of the reward-relevant circuitry to electrical activation since the total charge required to reach the M50 criteria did not differ between sham and NVHL rats (mean  $\pm$  sem: sham, 646.8  $\mu$ C  $\pm$  66.6; NVHL, 556.8  $\mu$ C  $\pm$  61.8;  $t = 0.97$ ,  $df = 50$ ,  $p > 0.05$ ). We also found no difference in group mean maximum response rate (mean  $\pm$  sem: sham, 99.9  $\pm$  6.3; NVHL, 95.2  $\pm$  7.2;  $t = 0.49$ ,  $df = 50$ ,  $p > 0.05$ ). NVHL rats thus show no deficiency in their capacity to produce and sustain an operant response over several repeated discrete trials, findings consistent with previous results (Chambers and Self, 2002).

Several studies reported an enhancement of BSR following a systemic amphetamine injection. For instance, Gifuni et al. (Gifuni et al., 2012), who used the same measurement methods and the same stimulation site, reported a 20-25% decrease in reward threshold at doses of 0.5 and 1.0 mg/kg of amphetamine, a reward enhancement that lasted near 90 min. These results are

very similar to those we found with sham rats. While the magnitude of the peak effect of amphetamine did not differ between sham and NVHL rats, its duration was significantly shorter in the latter group. That contrasts with the results obtained with locomotor activity. In effect, previous studies have consistently found an augmentation of the hyperlocomotor activity induced by amphetamine in NVHL rats (Lipska et al., 1993; Tseng et al., 2009; Wan et al., 1996), an effect that we did find previously in NVHL rats (Gallo and al., *submitted*). This difference between the effect of amphetamine on locomotor activity and on BSR in NVHL rats is, at first glance, difficult to explain. It is well known that electrical stimulation of reward-relevant neurons induces an increase in forward locomotion. In fact, the occurrence of forward locomotion during the initial training for BSR is a strong indicator of a rewarding effect (Miliaressis and LeMoal, 1976; Rompre and Miliaressis, 1980). Both, locomotor activity and BSR are associated with an increase in ventral striatal dopamine (DA) release and are attenuated by DA receptor blockers (see (Wise and Rompre, 1989)). Moreover, animals that were trained for BSR are more sensitive to the locomotor activating effect of amphetamine, hence suggesting that BSR induces sensitization of the underlying substrate (Boye et al., 2007). But there is some evidence that the reward-relevant substrate and the substrate that sub-serves locomotor activity may differ. Locomotor activity is induced by electrical stimulation at brain sites that support BSR but at stimulation parameters that failed to sustain operant responding (Miliaressis and LeMoal, 1976; Rompre and Miliaressis, 1980). Durivage and Miliaressis (Durivage and Miliaressis, 1987) have also shown that these behaviours are mediated by different sets of fibers that both travel along the medial forebrain bundle (MFB). More recently Gifuni et al. (Gifuni et al., 2012) reported that lesions of the lateral habenula enhanced amphetamine-induced hyperlocomotor activity but not

amphetamine-induced enhancement of reward. A possible explanation to the different results is that BSR is more sensitive to changes in ventral striatal DA than locomotor activity. Previous studies have shown, for instance, that the amplitude of the locomotor activity is not well correlated with the amplitude of ventral striatal DA release (Kalivas and Duffy, 1990; Wan et al., 1996). Wan et al. (Wan et al., 1996) also found no correlation between the level ventral striatal DA and locomotor activity following an amphetamine injection in NVHL rats. Interestingly, Lillrank et al. (Lillrank et al., 1999) found that amphetamine induced a larger increase in ventral striatal DA in sham than in NVHL rats, a finding that would be consistent with a stronger effect of amphetamine on BSR in sham than in NVHL rats, assuming that BSR is more sensitive than locomotor activity to changes in DA.

The cannabinoid agonist, THC, at the dose tested, produced a late and weak attenuation of BSR in sham but not in NVHL rats. This increase in reward threshold was not accompanied by a suppression of maximum response rate, hence reflecting a specific reward attenuation (Miliaressis et al., 1986). A late effect of THC was rather unexpected because previous studies reported early changes in BSR after different doses of THC in normal rats (Gardner et al., 1988; Katsidoni et al., 2013; Vlachou et al., 2007). But our findings are not inconsistent with some previous results. Vlachou et al. (Vlachou et al., 2007) also found an attenuation of BSR with THC but at a dose of 1.0 mg/kg. Fokos and Panagis (Fokos and Panagis, 2010) found no change at 0.5 and 1.0 m/kg, but the highest dose tended to inhibit reward.

Results that we obtained with WIN better differentiate sham from NVHL rats. WIN produced, in NVHL but not sham rats, an early attenuation of reward that was prevented by the CB1 antagonist, AM251. The increase in reward threshold was accompanied by a reduction in



maximum response rate and that could suggest that the former is due to a decrease in the capacity of the rats to produce the operant response. Based on Miliaressis et al's findings (Miliaressis et al., 1986) with the curve shift method a mean 20% reduction in maximum response rate cannot fully account for a mean 35% increase in reward threshold, hence suggesting that part of the effect of WIN must be specific on reward. Moreover, while AM251 completely prevented the reward attenuation of WIN, it only partially blocked the suppression of maximum response rate. Finally, it is interesting to notice that WIN at the high dose suppressed maximum response rates in sham and in NVHL rats, but attenuated reward in NVHL while having no effect in sham rats. This further reinforces the hypothesis that reward and performance are mediated by different substrates, a hypothesis that is supported by several previous pharmacological studies (Boye and Rompre, 2000; Gallo et al., 2010). This also demonstrates that in the NVHL it is motivational effect of WIN that is specifically altered.

In a previous study, we showed that WIN produced a significant conditioned place aversion in NVHL, but not in sham, rats (Gallo et al, *submitted*). Previous studies have shown that an aversive stimulus inhibits brain stimulation reward (Carlezon and Thomas, 2009; Diotte et al., 2000; Knoll and Carlezon, 2010) and this is consistent with the interpretation that in NVHL rats the aversive effect of WIN predominates. It is not clear how activation of CB1 receptors can produce an aversive effect in NVHL rats as no study to date has investigated the modulation of the limbic motivational circuitry by CB1 receptors in these animals. There is a large body of evidence supporting a role for CB1 receptors in modulation of VTA and ventral striatal glutamate, GABA and dopamine, neurotransmitters that play a key role in motivation. Glutamate and GABA exerts strong modulation on VTA DA neurons that project to the prefrontal cortex and the ventral striatum (Lupica and Riegel, 2005). Interestingly, a recent

optogenetic study has shown that selective activation of the mesoprefrontal DA pathway induces a conditioned place aversion. On the opposite, selective activation of the mesoaccumbens (ventral striatum) DA pathway induces a conditioned place-preference (Lammel et al., 2012). Since CB1 receptors modulate glutamatergic and GABAergic afferents to these pathways, it could be that in NVHL rats the modulation is biased towards activation of the mesoprefrontal DA pathway. An alternative hypothesis is that WIN acts in the ventral striatum to generate a predominant aversive effect. Carlezon and Thomas (Carlezon and Thomas, 2009) have suggested that ventral striatal GABA medium spiny neurons (MSN) encode both reward and aversion. The MSN receive several afferent inputs from other limbic nuclei, among which the hippocampus that has been lesioned in NVHL rats. These afferent inputs are modulated by CB1 receptors located on their terminals (Lupica et al., 2004). MSN are also modulated by local GABA interneurons that expressed CB1 receptors. There is some evidence that this circuitry is significantly altered in NVHL rats. Goto and O'Donnell (Goto and O'Donnell, 2002), for instance, have shown that MSN respond abnormally to VTA electrical stimulation in NVHL rats; rather than being inhibited as seen in sham they are strongly excited in NVHL rats. The abnormal response to VTA stimulation is reversed by prefrontal cortex lesions (Goto and O'Donnell, 2004). Lipska et al. (Lipska et al., 1998) also showed that prefrontal lesions in adult NVHL normalize the hyperlocomotion to amphetamine. The predominant aversive effect produced by WIN in NVHL may result from its action either in the ventral striatum, the VTA or both. It would be interesting to determine whether the reward attenuation induced by WIN can be reversed by lesions of the prefrontal cortex in adult NVHL rats; that would open up a new avenue to further understand the mechanism(s) of action.

While WIN was effective at altering BSR in NVHL rats, THC was not. The different pharmacological properties of WIN and THC may well account for the different results. But before drawing any conclusion, it would be imperative to study a larger range of THC doses.

The present results provide the additional evidence that rats with a schizophrenia-like phenotype respond abnormally to the motivational effect of CB1 receptor activation, suggesting the modulation of the limbic motivational circuitry by endocannabinoids is altered in these rats. While these basic results do not explain why schizophrenia patients consume more cannabis than the general population, they highlight the great importance of investigating this problematic using a valid animal model of the disease.

### **Acknowledgements**

This work was supported by the Canadian Institutes of Health Research (grant #115550).

### **Authors Contribution**

AG and PPR designed the experiments. CB and AG performed the surgery; AG, CB, EF, CD performed the behavioral tests and analyzed the data. All authors contributed to the final version of the manuscript.

### ***References***

- Boye, S.M., Grant, R.J., Tawfik, V.L., 2007. Intracranial self-stimulation of the dorsal raphe sensitizes psychostimulant locomotion. *Behav Neurosci* 121, 550-558.
- Boye, S.M., Rompre, P.P., 2000. Behavioral evidence of depolarization block of dopamine neurons after chronic treatment with haloperidol and clozapine. *J Neurosci* 20, 1229-1239.

Carlezon, W.A., Jr., Thomas, M.J., 2009. Biological substrates of reward and aversion: a nucleus accumbens activity hypothesis. *Neuropharmacology* 56 Suppl 1, 122-132.

Chambers, R.A., Self, D.W., 2002. Motivational responses to natural and drug rewards in rats with neonatal ventral hippocampal lesions: an animal model of dual diagnosis schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 27, 889-905.

Chaperon, F., Soubrie, P., Puech, A.J., Thiebot, M.H., 1998. Involvement of central cannabinoid (CB1) receptors in the establishment of place conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 135, 324-332.

Cheer, J.F., Kendall, D.A., Marsden, C.A., 2000. Cannabinoid receptors and reward in the rat: a conditioned place preference study. *Psychopharmacology (Berl)* 151, 25-30.

Diotte, M., Miguelez, M., Miliareisis, E., Bielajew, C., 2000. Interactions between rewarding lateral hypothalamic and aversive nucleus reticularis gigantocellularis stimulation. *Behav Brain Res* 116, 149-156.

Durivage, A., Miliareisis, E., 1987. Anatomical dissociation of the substrates of medial forebrain bundle self-stimulation and exploration. *Behav Neurosci* 101, 57-61.

Fattore, L., Cossu, G., Martellotta, C.M., Fratta, W., 2001. Intravenous self-administration of the cannabinoid CB1 receptor agonist WIN 55,212-2 in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 156, 410-416.

Fokos, S., Panagis, G., 2010. Effects of delta9-tetrahydrocannabinol on reward and anxiety in rats exposed to chronic unpredictable stress. *J Psychopharmacol* 24, 767-777.

Gallo, A., Lapointe, S., Stip, E., Potvin, S., Rompre, P.P., 2010. Quetiapine blocks cocaine-induced enhancement of brain stimulation reward. *Behav Brain Res* 208, 163-168.

Gardner, E.L., Paredes, W., Smith, D., Donner, A., Milling, C., Cohen, D., Morrison, D., 1988. Facilitation of brain stimulation reward by delta 9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology (Berl)* 96, 142-144.

Gifuni, A.J., Jozaghi, S., Gauthier-Lamer, A.C., Boye, S.M., 2012. Lesions of the lateral habenula dissociate the reward-enhancing and locomotor-stimulant effects of amphetamine. *Neuropharmacology* 63, 945-957.

Goto, Y., O'Donnell, P., 2002. Delayed mesolimbic system alteration in a developmental animal model of schizophrenia. *J Neurosci* 22, 9070-9077.

Goto, Y., O'Donnell, P., 2004. Prefrontal lesion reverses abnormal mesoaccumbens response in an animal model of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 55, 172-176.

Green, B., Kavanagh, D., Young, R., 2003. Being stoned: a review of self-reported cannabis effects. *Drug Alcohol Rev* 22, 453-460.

Kalivas, P.W., Duffy, P., 1990. Effect of acute and daily neurotensin and enkephalin treatments on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *J Neurosci* 10, 2940-2949.

Katsidoni, V., Kastellakis, A., Panagis, G., 2013. Biphasic effects of Delta9-tetrahydrocannabinol on brain stimulation reward and motor activity. *Int J Neuropsychopharmacol*, 1-12.

Knoll, A.T., Carlezon, W.A., Jr., 2010. Dynorphin, stress, and depression. *Brain Res* 1314, 56-73.

Koskinen, J., Lohonen, J., Koponen, H., Isohanni, M., Miettunen, J., 2009. Rate of Cannabis Use Disorders in Clinical Samples of Patients With Schizophrenia: A Meta-analysis. *Schizophr Bull*.

Lammel, S., Lim, B.K., Ran, C., Huang, K.W., Betley, M.J., Tye, K.M., Deisseroth, K., Malenka, R.C., 2012. Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area. *Nature* 491, 212-217.

Lecca, D., Cacciapaglia, F., Valentini, V., Di Chiara, G., 2006. Monitoring extracellular dopamine in the rat nucleus accumbens shell and core during acquisition and maintenance of intravenous WIN 55,212-2 self-administration. *Psychopharmacology (Berl)* 188, 63-74.

Lepore, M., Liu, X., Savage, V., Matalon, D., Gardner, E.L., 1996. Genetic differences in delta 9-tetrahydrocannabinol-induced facilitation of brain stimulation reward as measured by a rate-frequency curve-shift electrical brain stimulation paradigm in three different rat strains. *Life Sci* 58, PL365-372.

Lepore, M., Vorel, S.R., Lowinson, J., Gardner, E.L., 1995. Conditioned place preference induced by delta 9-tetrahydrocannabinol: comparison with cocaine, morphine, and food reward. *Life Sci* 56, 2073-2080.

Lillrank, S.M., Lipska, B.K., Kolachana, B.S., Weinberger, D.R., 1999. Attenuated extracellular dopamine levels after stress and amphetamine in the nucleus accumbens of rats with neonatal ventral hippocampal damage. *J Neural Transm* 106, 183-196.

Lipska, B.K., al-Amin, H.A., Weinberger, D.R., 1998. Excitotoxic lesions of the rat medial prefrontal cortex. Effects on abnormal behaviors associated with neonatal hippocampal damage. *Neuropsychopharmacology* 19, 451-464.

Lipska, B.K., Jaskiw, G.E., Weinberger, D.R., 1993. Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic hippocampal damage: a potential animal model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 9, 67-75.

- Lupica, C.R., Riegel, A.C., 2005. Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: a potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of addiction. *Neuropharmacology* 48, 1105-1116.
- Lupica, C.R., Riegel, A.C., Hoffman, A.F., 2004. Marijuana and cannabinoid regulation of brain reward circuits. *Br J Pharmacol* 143, 227-234.
- Mallet, P.E., Beninger, R.J., 1998. Delta9-tetrahydrocannabinol, but not the endogenous cannabinoid receptor ligand anandamide, produces conditioned place avoidance. *Life Sci* 62, 2431-2439.
- Miliaressis, E., 1981. A miniature, moveable electrode for brain stimulation in small animals. *Brain Res Bull* 7, 715-718.
- Miliaressis, E., LeMoal, M., 1976. Stimulation of the medial forebrain bundle: behavioral dissociation of its rewarding and activating effects. *Neurosci Lett* 2, 295-300.
- Miliaressis, E., Rompre, P.P., Laviolette, P., Philippe, L., Coulombe, D., 1986. The curve-shift paradigm in self-stimulation. *Physiol Behav* 37, 85-91.
- Muller-Vahl, K.R., Emrich, H.M., 2008. Cannabis and schizophrenia: towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia. *Expert Rev Neurother* 8, 1037-1048.
- Mundl, W.J., 1980. A constant-current stimulator. *Physiol Behav* 24, 991-993.
- Paxinos, G., Watson, C., 1986. *The rat brain in stereotaxic coordinates* Academic Press. New York, 55-60.
- Potvin, S., Kouassi, E., Lipp, O., Bouchard, R.H., Roy, M.A., Demers, M.F., Gendron, A., Astarita, G., Piomelli, D., Stip, E., 2008. Endogenous cannabinoids in patients with schizophrenia and substance use disorder during quetiapine therapy. *J Psychopharmacol* 22, 262-269.

- Romppe, P.P., Miliaressis, E., 1980. A comparison of the excitability cycles of the hypothalamic fibers involved in self-stimulation and exploration. *Physiol Behav* 24, 995-998.
- Romppe, P.P., Miliaressis, E., 1985. Pontine and mesencephalic substrates of self-stimulation. *Brain Res* 359, 246-259.
- Sanudo-Pena, M.C., Tsou, K., Delay, E.R., Hohman, A.G., Force, M., Walker, J.M., 1997. Endogenous cannabinoids as an aversive or counter-rewarding system in the rat. *Neurosci Lett* 223, 125-128.
- Tseng, K.Y., Chambers, R.A., Lipska, B.K., 2009. The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. *Behav Brain Res* 204, 295-305.
- Vlachou, S., Nomikos, G.G., Panagis, G., 2003. WIN 55,212-2 decreases the reinforcing actions of cocaine through CB1 cannabinoid receptor stimulation. *Behav Brain Res* 141, 215-222.
- Vlachou, S., Nomikos, G.G., Panagis, G., 2005. CB1 cannabinoid receptor agonists increase intracranial self-stimulation thresholds in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 179, 498-508.
- Vlachou, S., Nomikos, G.G., Stephens, D.N., Panagis, G., 2007. Lack of evidence for appetitive effects of Delta 9-tetrahydrocannabinol in the intracranial self-stimulation and conditioned place preference procedures in rodents. *Behav Pharmacol* 18, 311-319.
- Vlachou, S., Panagis, G., 2013. Regulation of Brain Reward by the Endocannabinoid System: A critical Review of Behavioral Studies in Animals. *Curr Pharm Des*.
- Voruganti, L.N., Slomka, P., Zabel, P., Mattar, A., Awad, A.G., 2001. Cannabis induced dopamine release: an in-vivo SPECT study. *Psychiatry Res* 107, 173-177.



Wan, R.Q., Giovanni, A., Kafka, S.H., Corbett, R., 1996. Neonatal hippocampal lesions induced hyperresponsiveness to amphetamine: behavioral and in vivo microdialysis studies. Behav Brain Res 78, 211-223.

Wise, R.A., Rompre, P.P., 1989. Brain dopamine and reward. Annu Rev Psychol 40, 191-225.

### ***Figures legends***

**Figure 1** Schematic representation of the areas affected by the lesion (left panels a). Ventral hippocampus lesions spread from -4.16 mm to -5.6 mm from bregma. The *grey area* represents the smallest lesions, the *black areas* the medium lesions and the *lines areas* the largest lesions. Photographs of coronal Nissl stained sections showing the hippocampus area in sham and lesioned animals (upper panels b). The lesioned hippocampus is characterized by cell loss and enlarged ventricles in comparison to sham. Coronal Nissl stained sections show the location of the stimulation site (arrow) within the posterio-medial mesencephalon for one sham and one lesioned rats (bottom panels b). In each rat the stimulation site was located within the ventral central gray, a region that contains a high density of reward relevant neurons.

**Figure 2** Changes in reward threshold (panel a) and maximum response rate (panel b) as a function of time after injection of a single dose (0.75 mg/kg, i.p) of amphetamine in sham and NVHL rats. Amphetamine produced a significant decrease in reward threshold, reflecting an enhancement of the rewarding effectiveness of the stimulation (panel a). The enhancement effect was shorter in duration in NHVL rats. Amphetamine also enhanced maximum response rate to the same magnitude in sham and NHVL rats (panel b) The initial points represent the mean of three baseline thresholds (B) determined before the injection for sham (n = 15) and

NHVL ( $n = 7$ ) rats. Data represent the mean ( $\pm$  SEM) and are expressed as percentage of baseline. The cross (+) indicates a significant difference ( $p < 0.05$ ) with the respective baseline threshold.

**Figure 3** Rate-frequency (R/F) curves obtained from sham (left panels) and NVHL (right panels) rats prior to (continuous line) and at three different times (broken lines) after injection of vehicle (top panels) and a single dose (0.5 mg/kg) of THC (bottom panels). THC produced a rightward shift of the R/F curves in the sham animals reflecting an attenuation of reward (panel c). Such a displacement was not seen after vehicle (panel a), and after THC and vehicle in NVHL rats (panels b and d).

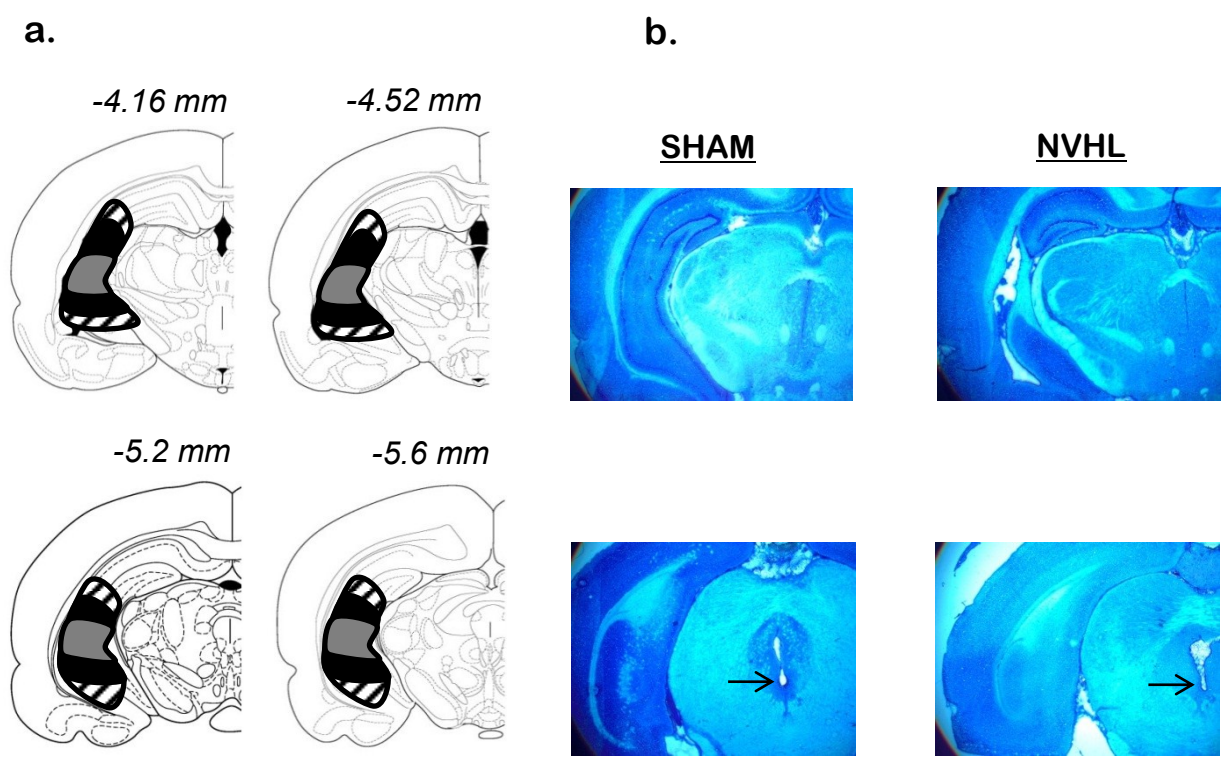
**Figure 4** Changes in reward threshold (top panels) and maximum response rate (bottom panels) as a function of time after injection of vehicle (Veh; sham,  $n = 9$ ; NHVL,  $n = 7$ ) and a single dose (0.5 mg/kg) of THC (sham,  $n = 10$ ; NHVL,  $n = 7$ ). The inset in each panel shows the mean changes over the entire test session. THC produced a weak and late increase in reward threshold, reflecting an attenuation of reward in sham (panel a) but not NVHL (panel b) rats. Maximum response rate was not altered by THC in both sham and NVHL rats (panels c and d). Data represent the mean ( $\pm$  SEM) and are expressed as percentage of baseline. The star (\*) indicates a significant difference ( $p < 0.05$ ) with Veh.

**Figure 5** Rate-frequency (R/F) curves obtained from sham (left panels) and NVHL (right panels) rats prior to (continuous line) and at three different times (broken lines) after injection of vehicle (top panels) and a dose of 3 mg/kg of WIN (bottom panels). WIN produced a large rightward shift of the R/F curves in NVHL (panel d) but not sham (panel c) rats, reflecting an

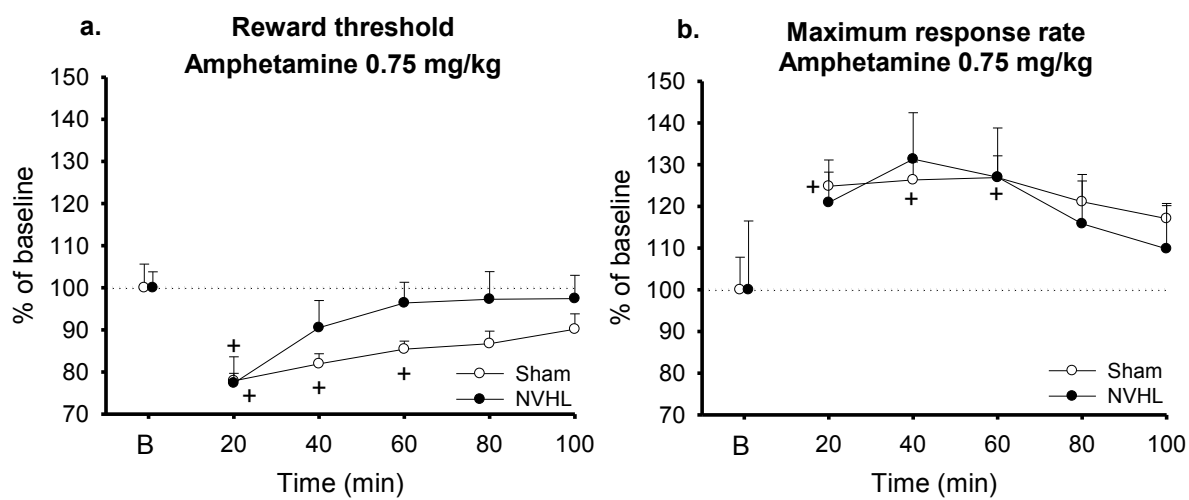
attenuation of the rewarding effectiveness of the stimulation. Such a displacement was not observed after vehicle injection (panels a and c).

**Figure 6** Changes in reward threshold (top panels) and maximum response rate (bottom panels) as a function of time after injection of vehicle (Veh) and two doses (1 and 3 mg/kg, WIN1 and WIN3) of WIN in sham (n = 5) and NHVL (n = 6) rats. The inset in each panel shows the mean changes measured 20 min after the injection. WIN produced a dose-dependent increase in reward threshold, reflecting an attenuation of reward in NVHL (panel b) but not in sham (panel a) rats. It also produced a suppression of maximum response rate in both sham (panel c) and NVHL (panel d) rats. Data represent the mean ( $\pm$  SEM) and are expressed as percentage of baseline. The star (\*) and the cross (+) indicate a significant difference ( $p < 0.05$ ) with Veh.

**Figure 7** Changes in reward threshold (panel a) and maximum response rate (panel b) as a function of time after injection of vehicle (Veh, n = 9), 3 mg/kg of WIN (WIN3, n = 8), 3 mg/kg of AM251 (n = 3) and AM251+WIN3 (n = 4) in NHVL rats. WIN produced a significant increase in reward threshold, an effect that was blocked by AM251. WIN also suppressed maximum response rate but this effect was attenuated and not blocked by AM251. When given alone, AM251 did not alter reward nor maximum response rate. Data represent the mean ( $\pm$  SEM) and are expressed as percentage of baseline. The star and the cross indicate a significant difference ( $p < 0.05$ ) with Veh and AM251+WIN3 respectively.

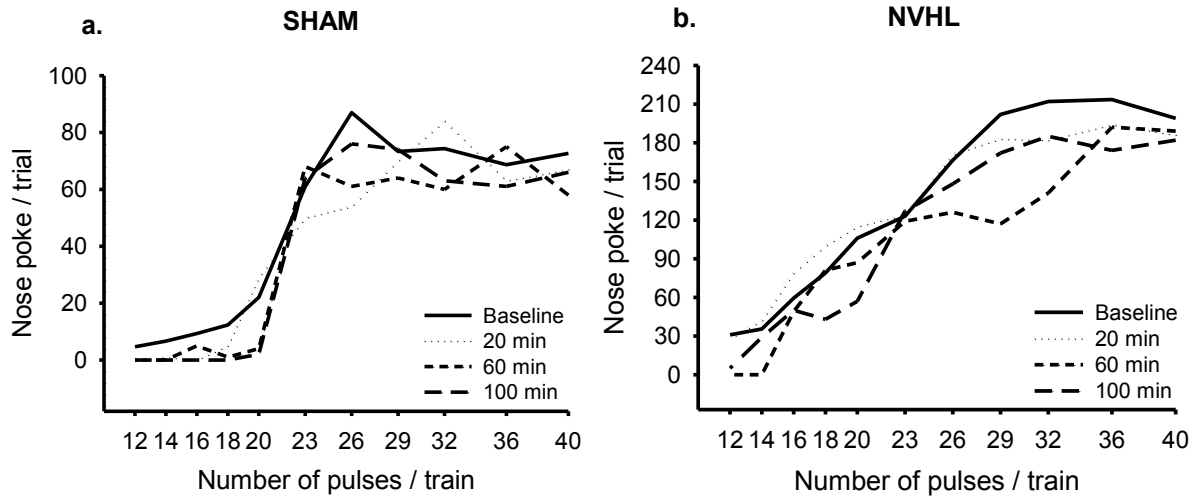


**Figure 1**

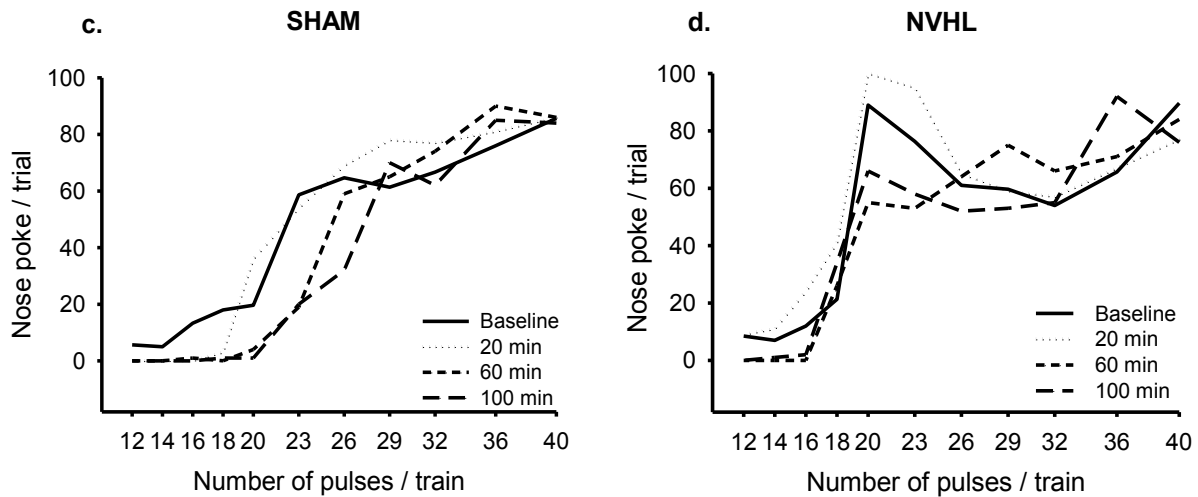


**Figure 2**

## Vehicle

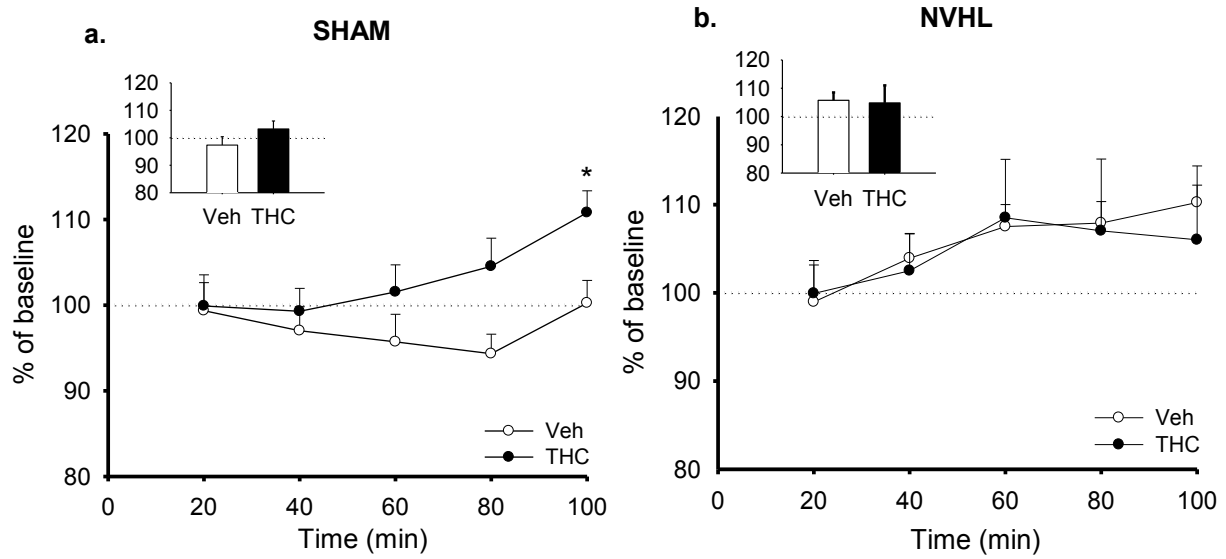


## THC 0.5 mg/kg

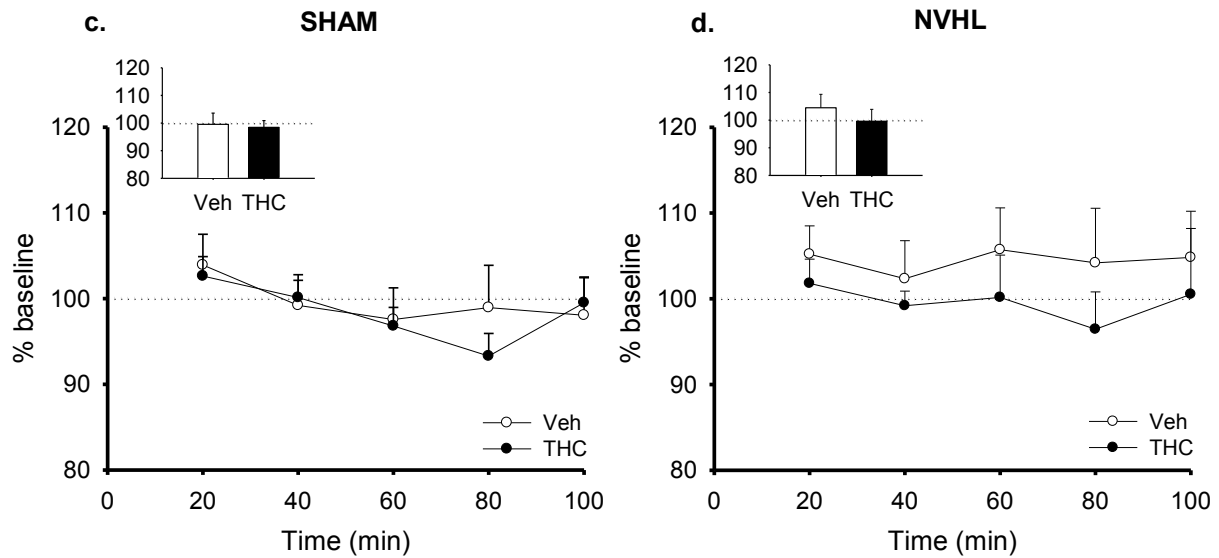


**Figure 3**

## Reward Threshold

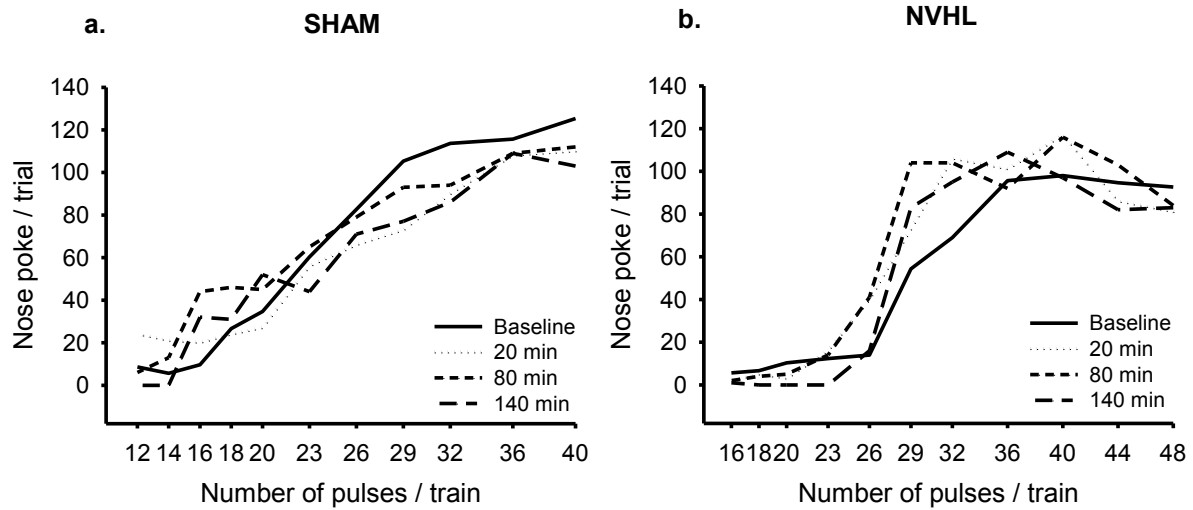


## Maximum response rate

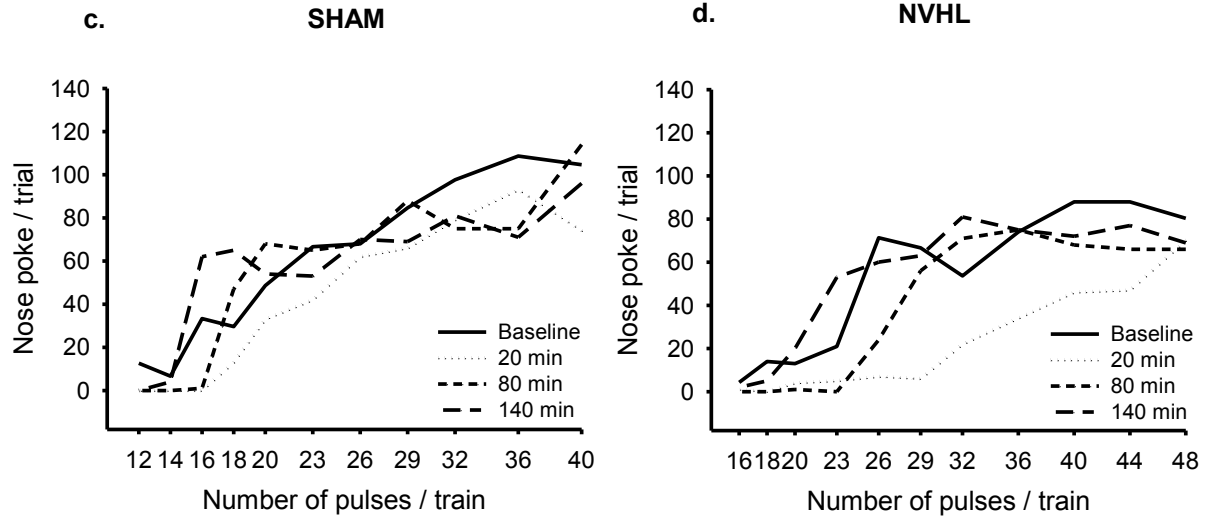


**Figure 4**

## Vehicle



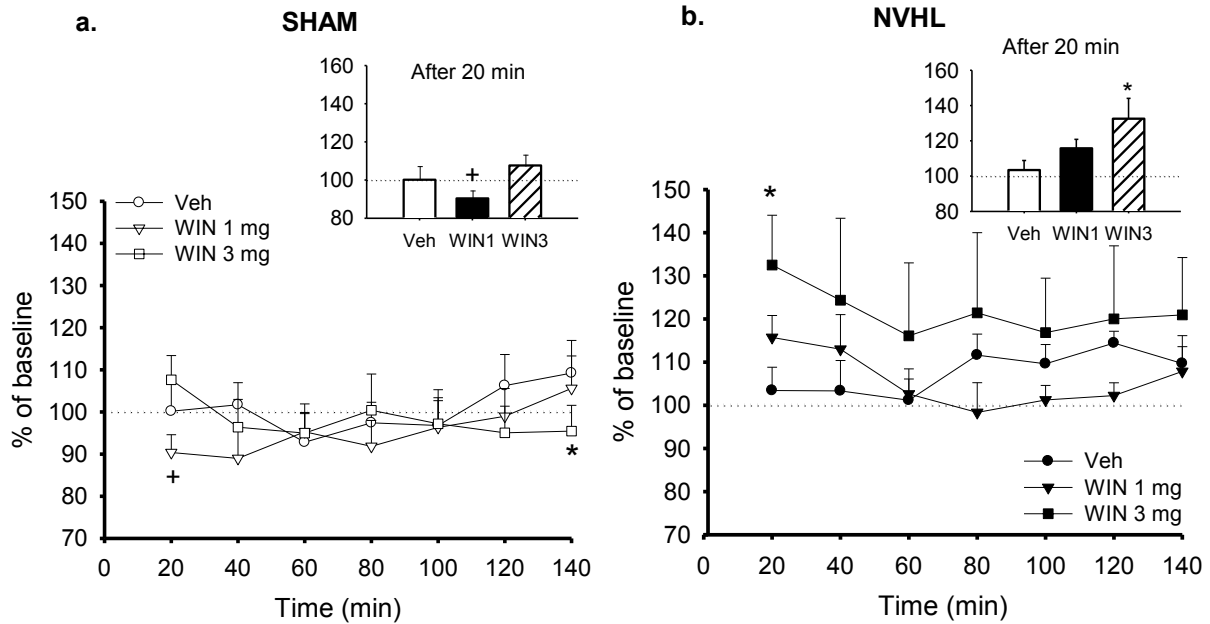
## WIN 3 mg/kg



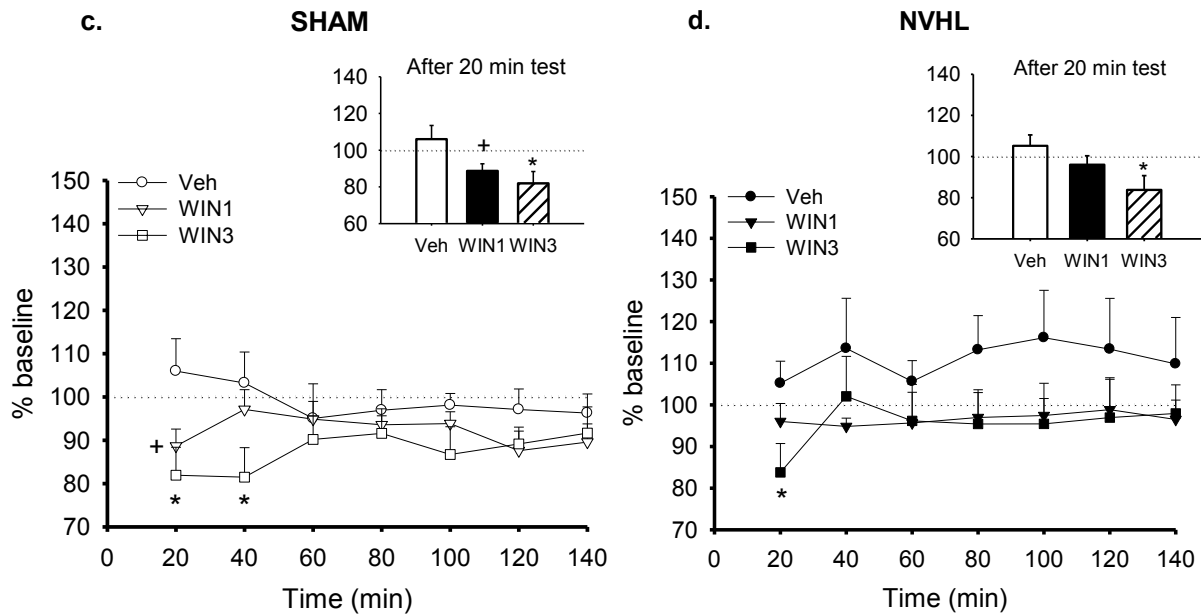
**Figure 5**



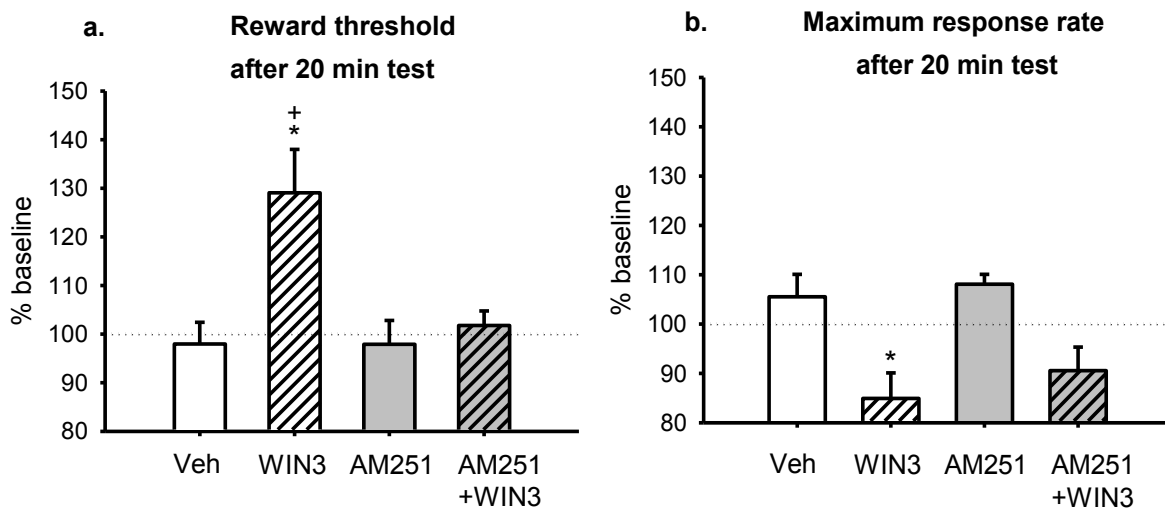
## Reward Threshold



## Maximum responses rate



**Figure 6**



**Figure 7**

# DISCUSSION GÉNÉRALE

---

## 1. Vue d'ensemble des résultats de cette étude

*Premier article.* Les objectifs de cette étude étaient : 1) de vérifier si la méthode que nous avons appliquée pour réaliser les lésions néonatales permettait de reproduire certaines anomalies typiques du modèle de Lipska et Weinberger; 2) de caractériser l'effet du WIN, un agoniste CB1/CB2 sur la locomotion spontanée et 3) d'évaluer au moyen du paradigme de PPC l'impact motivationnel du THC et du WIN. L'hypothèse principale était que les rats NVHL sont moins sensibles aux effets aversifs des cannabinoïdes. Les résultats montrent que les rats NVHL présentaient des réponses comportementales significativement distinctes des rats shams pour l'ensemble des tests effectués et seulement à l'âge adulte (PD56). Les rats NVHL adultes ont présenté une hyperactivité locomotrice en réponse aux deux doses d'amphétamine supérieure à celle des rats shams adultes; toutefois aucune différence n'a pu être détectée pour le test de nouveauté et le test de stress léger (injection de saline). Les rats NVHL adultes et non les shams présentaient également une hyperactivité locomotrice en réponse à une injection de WIN. Dans ces tests de mesure de l'activité locomotrice, la distinction entre les rats shams et NVHL ne concerne que les mouvements ambulatoires; aucune différence n'a été observée pour les mouvements non-ambulatoires et verticaux. Dans le paradigme de PPC, le WIN a induit une APC chez les rats NVHL adultes mais n'a produit aucun effet chez les rats shams. Dans le test avec le THC, on a pu détecter une légère tendance vers une APC chez les rats shams, un effet qui n'était pas du tout évident chez les rats NVHL. Nous avons donc pu confirmer la présence d'une réponse anormale à l'amphétamine chez les rats NVHL adultes, l'anomalie la plus représentative du modèle de Lipska et Weinberger et

nous avons montré que chez les rats shams et NVHL les agonistes cannabinoïdes ont induit des réponses motivationnelles distinctes.

**Deuxième article.** Cette étude avait pour objectif de mieux caractériser l'effet du THC et du WIN sur le circuit neuronal de la récompense. Après avoir mesuré les effets de ces agents cannabinoïdes au moyen d'un paradigme de conditionnement Pavlovien, nous avons poursuivi l'investigation en utilisant un paradigme de conditionnement opérant, soit l'ASI. Nous avons également réalisé une expérience afin de déterminer si l'effet du WIN était dû à son action aux récepteurs CB1. Nous avons également effectué une expérience ayant pour objectif de déterminer si l'effet d'amplification de l'amphétamine sur l'ASI était différent chez les rats NVHL et les rats shams. On se rappellera que la réponse locomotrice à l'amphétamine est celle qui différencie le mieux les rats NVHL et les rats shams dans le modèle de Lipska et Weinberger. Or à ce jour aucune étude n'a été réalisée avec le paradigme d'ASI. Sur la base des résultats obtenus au moyen du paradigme de PPC, nous avons émis l'hypothèse que le WIN et le THC induiraient des effets différents chez les rats NVHL et les rats shams et que l'effet du WIN serait atténué, voire bloqué, par l'AM251. Les résultats de l'étude avec l'amphétamine ont montré que les rats shams et NVHL présentent une augmentation de la récompense et une légère augmentation de la performance de même amplitude. Toutefois, l'effet d'amplification de la récompense de l'amphétamine a perduré moins longtemps chez les rats NVHL que les rats shams; cette différence n'a pas été observée pour la performance. Le THC, à la dose testée, n'a produit aucun changement de la récompense chez les rats NVHL; cependant chez les rats shams on a observé un effet inhibiteur tardif. La performance n'a pas été altérée par le THC pour les deux groupes. Le WIN a produit, chez les rats NVHL, une atténuation de la récompense qui était dépendante de la dose; on a également observé une

diminution transitoire de la performance. Chez les shams le WIN n'a pas altéré la récompense à chacune des doses toutefois, il a produit une atténuation de la performance à 3 mg/kg, un effet similaire à celui observé chez les rats NVHL. Considérant que seuls les rats NVHL présentent une atteinte notable de la récompense en réponse au WIN à la plus forte dose, nous avons réalisé une nouvelle expérience avec les rats NVHL seulement afin de déterminer si le WIN atténue la récompense en activant les récepteurs CB1. Les résultats ont montré que l'effet atténuateur du WIN a été bloqué par l'AM251, un antagoniste sélectif aux récepteurs CB1. Il est intéressant de noter que l'AM251 n'a produit qu'une atténuation partielle de la réduction de la performance ce qui suggère que cet effet du WIN n'est pas uniquement dû à son action aux récepteurs CB1.

L'ensemble des résultats obtenus dans **l'article 1 et 2** sont présentés sous forme d'un tableau récapitulatif (**Tableau IV-1**). Nous allons successivement discuter les résultats présentés dans ce tableau dans les sections suivantes.

DROGUES INJECTÉES	PD35		PD56	
	SHAM	NVHL	SHAM	NVHL
<b>ACTIVITÉS LOCOMOTRICE</b>				
<b>Amphétamine 0.75 et 1.5 mg/kg</b>	Ø effets	Ø effets	SA>SS* (pas effets tests nouv ou saline).	LA>LS* et >SA* (pas effets nouv ou saline).
<b>WIN 1 mg/kg</b>	- Ø effets général - Tendance TT1≠TT2	- Ø effets général - TT1≠TT2*	Ø effets	- LW>LS* et >SW* - TT1≠TT2*
<b>PRÉFÉRENCE DE PLACE CONDITIONNÉE (PPC)</b>				
<b>THC 0.5 mg/kg</b>	Ø effets	Ø effets	Tendance APC avec fuite vers N*	Ø effets
<b>WIN 1 mg/kg</b>	Ø effets	Tendance APC avec tendance fuite vers N	Ø effets	APC* et tendance fuite vers N
<b>AUTOSTIMULATION INTRACÉRÉBRALE (ASI)</b>				
<b>Amphétamine 0.75 mg/kg</b>	NON TESTÉ	NON TESTÉ	↓ M50* et ↑ ASY*	↓ M50* et ↑ ASY* tendance effets moins long.
<b>THC 0.5 mg/kg</b>			À 100 min, ↑ M50* mais ASY Ø	Ø effets
<b>WIN 1 mg/kg</b>			Ø effets	↑ M50 LW>SW* mais ASY Ø
<b>WIN 3mg/kg</b>			Ø M50 mais ↓ ASY*	↑ M50* et ↓ ASY*
<b>WIN 3 mg/kg + AM251 3 mg/kg</b>			NON TESTÉ	Renversement M50 mais partiel de ASY

**Tableau IV-1 :** Vue d'ensemble des résultats.

*Abréviations :* Ø : aucun, APC : Aversion de Place Conditionnée, N : compartiment neutre, TT1 et TT2 : Traitement 1 et 2 (voir Figure IV-1), SA : Sham amphétamine, SS : Sham solvant, SW : Sham WIN, LA : NVHL amphétamine, LS : NVHL solvant, LW : NVHL WIN, \* p < 0.05.

## 2. Le modèle NVHL

### 2.1 *Modifications des paramètres*

Tel que mentionné à la **section 1.1 de la Méthodologie illustrée**, il fut nécessaire d'apporter des modifications à la méthodologie utilisée pour réaliser les lésions néonatales. Le Comité de Déontologie de l'Expérimentation Animale de l'Université de Montréal a en effet exigé une méthode d'anesthésie par inhalation à l'isoflurane; la méthode par hypothermie n'étant pas acceptable pour des rats âgés de plus de 5 jours. À notre connaissance, aucune étude n'avait comparé l'impact d'une méthode d'anesthésie par hypothermie à celle par inhalation d'isoflurane, sur l'étendue des lésions à la dose de toxine utilisée par Lipska et Weinberger (3.0 µg/0.3 µl). L'analyse des cerveaux des premiers groupes de rats ayant été lésés avec une dose de 3.0 µg/0.3 µl d'acide iboténique a révélé que les lésions étaient largement étendues incluant une disparition complète de l'HPCv et une atteinte importante de l'HPCd. Tel que mentionné à la **section 4.1.4 de l'Introduction**, il est important que l'HPCd soit intact et que l'HPCv soit lésé partiellement. Nous avons donc émis l'hypothèse que l'hypothermie produisait un effet neuroprotecteur (Liu and Yenari 2007) et que la dose de toxine requise dans la condition d'anesthésie par isoflurane devait être inférieure à celle requise dans la condition d'anesthésie par hypothermie. Il est en effet possible qu'une diminution de la circulation sanguine puisse réduire la diffusion de l'acide iboténique dans le tissu nerveux et limiter l'étendue de la lésion. Pour tester cette hypothèse, nous avons réalisé une expérience pilote où nous avons injecté différentes concentrations d'acide iboténique (cinq rats à 10 µg/µl, huit rats à 5 µg/µl et huit rats à 2.5 µg/µl, le volume injecté était dans tous les cas de 0.3 µl par hémisphère) chez différents groupes de rats et procédé à l'analyse histologique des cerveaux à PD35. L'analyse histologique a permis d'exclure la

majorité des rats ayant reçu une concentration de 10 et 2.5 µg/µl, les lésions étaient soit trop étendues, soit trop restreintes ou peu apparentes; par contre selon les critères décrits précédemment, un seul des huit rats ayant été injecté avec une concentration de 5 µg/µl a été exclu. Cette dernière concentration a donc été utilisée pour l'ensemble des expériences réalisées par la suite.

Une autre modification fût apportée dans la procédure chirurgicale du modèle NVHL. Dans la plupart des articles publiés utilisant ce modèle, les rats du groupe contrôle reçoivent une injection bilatérale de solvant (saline, tampon phosphate salin (PBS) ou liquide céphalorachidien artificiel). Ce genre de groupe contrôle est généralement utilisé afin de déterminer si l'effet attendu est dû à la toxine ou aux dommages causés par l'insertion de la canule et l'injection d'un volume de liquide dans le tissu nerveux. Par exemple, il est couramment utilisé dans des études pharmacologiques où l'on procède à des injections *in situ*. Au début de l'étude, nous avons utilisé ce type de groupe contrôle. Cependant, nous avons rapidement observé chez certains rats shams un élargissement des ventricules latéraux et un amincissement de l'HPCv, des dommages aux cerveaux qui étaient non-désirables. Aussi, certains de ces animaux présentaient des niveaux d'activité locomotrice en réponse à l'amphétamine similaires à ceux des rats NVHL. Cette observation est plus ou moins appuyée par des résultats déjà publiés. En effet, les études qui ont comparé des rats shams ayant reçu une injection de PBS et des rats n'ayant reçu aucune injection ni insertion de canule, ne rapportent aucune différence comportementale (Wan, Giovanni et al. 1996, Beninger, Tuerke et al. 2009). Cependant, Beninger et al. (Beninger, Tuerke et al. 2009) mentionnent toutefois que dans certaines expériences (résultats non publiés) ils ont observé que les rats shams injectés avec du PBS avaient un niveau de performance dans le test de la piscine de Morris se



situant entre celui des rats shams non-injectés et des rats NVHL. Aussi, ils suggèrent que l'injection d'un solvant pourrait produire un dommage cérébral significatif qui engendrerait des anomalies comportementales. Rajoutons que dans ces études, les animaux ont été anesthésiés par hypothermie et non par la méthode d'inhalation à l'isoflurane. Il est possible que la propriété neuroprotectrice de l'hypothermie ait contribué à réduire l'impact de l'insertion de la canule et de l'injection de solvant. Il est raisonnable d'envisager que l'impact comportemental de l'insertion de la canule et de l'injection de solvant chez ces rats shams soit plus saillant dans une condition d'une anesthésie sous isoflurane. Ces observations nous ont amenés à revoir notre procédure. Le modèle de Lipska et Weinberger a été développé afin de reproduire chez l'animal des anomalies qui sont analogues aux symptômes observés chez les patients atteints de schizophrénie. L'hypothèse neurodéveloppementale de la schizophrénie suppose qu'un dommage cérébral pendant la maturation du cerveau engendre des dysfonctionnements qui se révéleront à l'âge adulte, âge où les différentes aires cérébrales ont atteint leur développement optimal (Weinberger 1987). Le groupe contrôle dans les études réalisées chez l'humain est constitué de sujets sains, n'ayant évidemment subi aucune atteinte cérébrale. Pour maximiser la validité du modèle animal, il apparaissait donc logique de comparer les rats NVHL à des rats normaux n'ayant aucune atteinte du cerveau. Toutefois, il était important d'avoir un contrôle sur les autres facteurs associés à la chirurgie soit l'impact de l'anesthésie, les effets physiologiques causés par l'incision, les effets post-opératoires et ceux causés par la séparation momentanée de la mère. Par conséquent, les rats shams ont subi une procédure chirurgicale identique à celle des rats NVHL à la seule exception que la canule d'injection n'a pas été insérée dans le cerveau pour éviter tout dommage au tissu nerveux.

Enfin au cours de la période de développement, nous nous sommes assuré qu'un rat sham co-habitait avec un rat NVHL en tout temps. Deux raisons majeures justifient ce choix : la première est basée sur le fait que le contexte socio-environnemental joue un rôle important dans le développement des symptômes de schizophrénie. En effet, le modèle d'isolation sociale est un modèle qui a lui seul reproduit certains symptômes dit « positifs » de la schizophrénie chez des rats normaux, notamment l'hyperactivité locomotrice en réponse à la nouveauté (Silva-Gomez, Rojas et al. 2003). Dans le cas du modèle NVHL, l'ajout de l'isolement social aux paramètres du modèle engendre une augmentation de la majorité des symptômes déjà exprimés par les rats NVHL (Alquicer, Silva-Gomez et al. 2004, Alquicer, Morales-Medina et al. 2008). Compte-tenu de ces observations, il nous est apparu important de toujours avoir au moins deux à trois animaux par cage pour éviter l'isolement de l'un de nos animaux dû aux aléas de la portée et de la chirurgie. La deuxième raison est issue du point de vue écologique du modèle. Il est rare qu'un patient atteint de schizophrénie ait été élevé ou ait vécu dans un environnement composé uniquement de personnes qui vont développer la maladie à l'âge adulte. Aussi, bien que l'ensemble des études réalisées avec ce modèle regroupe les rats en fonction de l'état lésionnel, nous avons jugé préférable que les rats NVHL soient en contact avec des rats normaux.

## ***2.2 Distinction comportementale basale entre les rats shams et NVHL.***

Avant de tester l'impact motivationnel des cannabinoïdes, il était pertinent de déterminer si la modification que nous avons apportée à la procédure de lésions permettait de reproduire les signes distinctifs du modèle NVHL. À cette fin, nous avons testé nos animaux dans le paradigme de mesure de l'activité locomotrice en réponse à la nouveauté, à un stress léger

(injection de saline) et à une injection d'amphétamine (0.75 ou 1.5 mg/kg, i.p) et cela à PD35 et à PD56. Toutes les études ayant utilisées le modèle NVHL ont rapporté une augmentation de l'effet stimulant de l'amphétamine chez les rats NVHL, une anomalie qui est présente à PD56 seulement. Tel que présenté dans **l'article 1**, et en accord avec ces études, nous n'avons d'abord détecté aucune différence significative entre les rats shams et NVHL à PD35 dans les trois tests d'activité locomotrice. Par contre, à PD56, nous avons observé une augmentation de l'effet stimulant de l'amphétamine sur l'activité ambulatorie chez les rats NVHL; cette augmentation était plus grande à la dose de 1.5 mg/kg. Le fait que nous n'ayons pas observé de différence entre les rats shams et NVHL pour les mouvements non-ambulateurs et les mouvements verticaux démontrent que les rats NVHL étaient vraiment plus sensibles à l'effet stimulant de l'amphétamine. En effet, l'amplitude plus faible des mouvements ambulateurs chez les rats shams ne peut être expliquée par une interférence due à une plus grande activité d'autre nature. Ces résultats sont importants puisqu'ils reproduisent un des signes distincts les plus fidèles du modèle NVHL (Lipska, Jaskiw et al. 1993, Flores, Wood et al. 1996, Wan, Giovanni et al. 1996). Cependant, nous n'avons pas observé de différence entre les deux groupes pour la locomotion induite par la nouveauté et par un stress léger. Ces résultats ne sont pas singuliers puisqu'ils ont été observés par plusieurs groupes différents (Wan and Corbett 1997, Chambers and Taylor 2004, Conroy, Rodd et al. 2007). Il est possible que cela soit dû à des différences d'ordre méthodologique. Par exemple, les conditions d'élevage et de manipulation des animaux varient beaucoup d'une étude à l'autre, et cela peut affecter l'état de stress de l'animal, et par voie de conséquence sa réponse à la nouveauté et à un stress ultérieur. Les effets d'une drogue telle que l'amphétamine seraient moins sensibles aux conditions

environnementales ce qui explique la constance des résultats d'une étude à l'autre et ce qui en fait une mesure plus fiable de la distinction phénotypique entre les rats shams et NVHL.

Certaines études ont exploré l'impact motivationnel des drogues d'abus dans le modèle NVHL. Les études utilisant le paradigme d'AAIV ont rapporté que les rats NVHL présentaient un apprentissage plus rapide de l'AAIV de cocaïne et de métamphétamine, avaient une motivation plus élevée pour la consommation de métamphétamine, une rechute plus rapide du comportement de recherche de cocaïne induite par une injection de cocaïne ou par un stimulus associé à la cocaïne et une plus lente extinction du comportement de recherche de cocaïne (Chambers and Self 2002, Brady, McCallum et al. 2008, Karlsson, Kircher et al. 2013). Par contre, Le Pen et al. (Le Pen, Gaudet et al. 2002) ont montré que dans le paradigme de PPC les rats NVHL sont moins sensibles à l'effet de récompense de l'amphétamine que les rats shams. Ces résultats contradictoires sont peut-être dus au fait que le PPC et l'AAIV mesurent des aspects différents de la récompense. Tel que mentionné dans **l'Introduction section 3.2**, l'AAIV est un paradigme de conditionnement opérant tandis que la PPC est paradigme de conditionnement Pavlovien. Ces observations démontrent que les rats NVHL sont non seulement plus sensibles à l'hyperactivité locomotrice induite par les psychostimulants mais également plus sensibles à l'effet de récompense induit par ces drogues, du moins dans le paradigme de conditionnement opérant.

Puisqu'aucune étude n'a abordé l'impact motivationnel de l'amphétamine dans le modèle NVHL au moyen du paradigme d'ASI, nous avons réalisé une expérience visant à déterminer si l'augmentation par l'amphétamine de l'effet de récompense induit par la stimulation électrique intracérébrale était différente entre les rats NVHL et les rats shams. Tel qu'attendu,

l'amphétamine a produit une augmentation de la récompense chez les rats shams, un effet aussi présent chez les rats NVHL; mais l'analyse statistique a révélé que l'effet de l'amphétamine était de durée plus courte chez les rats NVHL. À cet égard, il est intéressant de noter que l'amphétamine a aussi augmenté la performance chez les deux groupes; mais lorsqu'on a comparé les seuils pré- et post-injections, on a trouvé des différences statistiquement significatives uniquement pour les rats shams. La grande variabilité du taux de réponses maximales de base entre les rats NVHL pourrait cependant expliquer ce résultat. Les résultats d'ASI sont à l'opposé de ceux obtenus avec l'activité locomotrice puisque les rats NVHL semblent moins sensibles à l'effet de l'amphétamine que les rats shams. Ces résultats opposés sont à première vue quelque peu étonnants. En effet, l'activation du circuit de récompense soit par les drogues soit par la stimulation électrique augmente la locomotion dirigée (« forward locomotion » (Wise and Bozarth 1987, Wise and Rompre 1989)). L'amphétamine amplifie la récompense induite par l'ASI et augmente l'activité locomotrice, des effets qui sont atténués par des antagonistes aux récepteurs dopaminergiques (voir (Wise and Rompre 1989)). Boye et al. (Boye, Grant et al. 2007) ont aussi montré que l'ASI sensibilise à l'effet stimulant de l'amphétamine sur la locomotion. L'ensemble de ces résultats suggère que les mécanismes neurobiologiques qui sous-tendent la récompense induite par l'ASI et la locomotion sont communs. Cependant, Gifuni et al. (Gifuni, Jozaghi et al. 2012) ont rapporté que des lésions de l'habénula latérale augmentent l'hyperlocomotion induite par l'amphétamine, mais n'ont aucun effet sur l'augmentation de l'effet de récompense de l'ASI par l'amphétamine. Ces résultats démontrent que les substrats nerveux qui sous-tendent la locomotion et la récompense induite par l'ASI diffèrent, du moins à un certain niveau du circuit, ce qui pourrait expliquer les résultats opposés obtenus avec l'ASI et la locomotion

chez les rats NVHL. Cependant ce qui différencie les rats shams des rats NVHL, c'est la durée et non l'amplitude de l'effet de l'amphétamine sur la récompense. Ceci suggère que les rats NVHL ont développé une certaine tolérance. S'il y avait tolérance, on observerait une durée d'action plus courte chez les rats NVHL dans tous les tests avec l'amphétamine, ce qui n'est pas le cas. Une explication se trouve peut-être dans le fait que l'ASI est plus sensible aux changements du niveau extracellulaire de DA dans le striatum ventral que l'activité locomotrice. Selon Wan et al. (Wan, Giovanni et al. 1996) l'augmentation de DA extracellulaire dans le striatum ventral n'est pas corrélée avec le niveau d'activité locomotrice autant chez les rats NVHL que les shams. Lillrank et al. (Lillrank, Lipska et al. 1999) ont aussi montré que l'amphétamine produit une plus grande augmentation de DA extracellulaire dans le striatum ventral chez les rats shams que les NVHL, une caractéristique aussi retrouvée dans l'étude de Wan et al. (Wan, Giovanni et al. 1996). Cela pourrait expliquer pourquoi l'effet de l'amphétamine sur l'ASI et la locomotion diffère.

Ces deux premières expériences ont permis de démontrer que la procédure de lésion que nous avons appliquée permet de reproduire le phénotype le plus distinct et le plus fiable du modèle NVHL. Elles démontrent également que la réponse à l'amphétamine dans le test de locomotion et l'ASI, est plus efficace pour mettre en évidence des anomalies créées par le modèle que le test de la nouveauté et de stress léger. La démonstration que l'on peut reproduire le modèle NVHL était essentielle pour la validité des résultats des études subséquentes portant sur l'impact motivationnel des cannabinoïdes dans un modèle de « schizophrénie ».

### **3. Les rats de phénotype « schizophrénique » ont un système eCB altéré.**

#### **3.1 *Études avec l'agoniste CB1/CB2, le WIN55,212-2***

Les études que nous avons réalisées indiquent que les rats NVHL sont distinctement sensibles aux effets comportementaux et aversifs du WIN par rapport aux rats shams. Cette distinction a été mise en évidence avec trois paradigmes comportementaux : la mesure de l'activité locomotrice, la PPC et l'ASI, et seulement chez les animaux adultes à PD56.

##### **3.1.1 Test d'activité locomotrice**

Le test de l'activité locomotrice a montré que le WIN n'altère pas la locomotion spontanée chez les rats shams mais produit une hyperactivité chez les rats NVHL; l'activité locomotrice chez les rats NVHL traités avec le WIN était significativement plus élevée que celle des rats NVHL traités avec le solvant et celle des rats shams traités avec le WIN. Tout comme nous l'avons vu avec l'amphétamine, la différence a été observée uniquement au niveau des mouvements ambulateurs ce qui permet d'exclure toute augmentation d'activité motrice pouvant entraver l'expression des mouvements ambulateurs chez les rats shams. Les résultats obtenus avec les rats shams sont plutôt en accord avec la littérature. En effet, plusieurs études n'ont rapporté aucun changement de l'activité locomotrice à la dose de WIN utilisée (1 mg/kg/3ml) (Drews, Schneider et al. 2005, Jarbe, Ross et al. 2006, Pandolfo, Pamplona et al. 2007). Toutefois, une étude a rapporté une inhibition de l'activité locomotrice spontanée chez des rats normaux adultes (Polissidis, Galanopoulos et al. 2013). Étonnamment, la même équipe a rapporté en 2009 que le WIN à 1 mg/kg n'entraînait aucune modification de l'activité locomotrice (Polissidis, Chouliara et al. 2009). La seule différence que nous avons

pu remarquer est que dans leur étude publiée en 2009, le WIN a été testé chez des animaux qui avaient été préalablement exposés à la cage de test alors que dans l'étude de 2013, le WIN a été testé chez des animaux non-exposés. Puisqu'ils ne font pas référence à ces résultats différents il est difficile d'y trouver une explication. Une hypothèse possible est que le WIN ait inhibé sélectivement l'effet de la nouveauté sur la locomotion. C'est-à-dire que chez les animaux traités avec le solvant, l'environnement nouveau a stimulé la locomotion, un effet qui a été atténué par le WIN.

En l'absence de données sur les effets des cannabinoïdes dans un modèle animal de la schizophrénie, on ne peut que faire des comparaisons avec d'autres modèles. Une comparaison intéressante peut être faite avec le modèle animal du trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité (TDAH), le modèle SHR (« Spontaneously Hypertensive Rat »). Ce modèle de TDAH présente plusieurs similitudes avec le modèle NVHL telles que : l'hyperactivité locomotrice spontanée, une hyperactivité locomotrice supérieure (par rapport aux contrôles) en réponse aux psychostimulants, des déficits d'attention, de mémoire et d'apprentissage, et une plus grande augmentation de la consommation d'alcool (Sagvolden and Sergeant 1998, Sagvolden 2000, Amini, Yang et al. 2004, Da Silva, Vendruscolo et al. 2005, Prediger, Fernandes et al. 2005). Dans leur étude, Pandolfo et al. (Pandolfo, Pamplona et al. 2007) ont rapporté que chez l'animal adulte, le WIN (1.25 mg/kg) n'augmente pas l'activité locomotrice des rats normaux Wistar ni chez les rats SHR. Cependant, si l'on porte attention à la comparaison entre Wistar et SHR adulte pour la locomotion totale, on s'aperçoit qu'il n'y a aucune différence significative entre Wistar et SHR en réponse au solvant (Figure 1B, graphique de droite dans (Pandolfo, Pamplona et al. 2007)). Ceci paraît surprenant car les auteurs ont rapporté que les rats SHR présentent normalement une hyperactivité locomotrice



spontanée. Aussi, si l'on compare la réponse locomotrice totale après l'injection de WIN chez les Wistar et SHR adultes, on note que celle des SHR est presque deux fois plus élevée que celle des Wistar, ce qui suggère que le WIN a tendance à stimuler l'activité des SHR, un résultat similaire à celui que nous avons obtenu avec les rats NVHL. Il est important toutefois de mentionner que la procédure expérimentale appliquée par Pandolfo et al. (Pandolfo, Pamplona et al. 2007) était différente de celle que nous avons appliquée dans notre étude; ils ont injecté le WIN 30 min. avant le test de locomotion et celui-ci ne durait que 5 min. Dans notre étude, nous avons injecté le WIN 5 min. avant le test de locomotion et mesuré l'activité pendant 30 min. L'ensemble de ces observations met en exergue le fait que les rats NVHL ont une sensibilité différente au WIN par rapport aux rats shams.

### **3.1.2 Test de préférence de place conditionnée**

Les résultats de l'étude de la valence motivationnelle du WIN au moyen du test de PPC apportent un appui additionnel à l'hypothèse que les rats NVHL répondent différemment aux agents cannabinoïdes. Dans **l'article 1**, nous avons rapporté une APC significative chez les rats NVHL conditionnés avec le WIN. En effet, à chaque test de conditionnement, ces animaux ont passé beaucoup moins de temps dans le compartiment associé avec le WIN que les rats NVHL traités avec le solvant et les rats shams traités avec le WIN. Cette APC était associée à une tendance des rats NVHL traités avec le WIN à se réfugier vers ou passer plus de temps dans le compartiment neutre (aucune injection ni conditionnement). Par contre, aucune APC ou PPC n'a pu être observé chez les rats shams traités avec le WIN. Seulement trois équipes ont évalué l'effet du WIN dans le paradigme de PPC. Chaperon et al. (Chaperon, Soubrie et al. 1998) ont rapporté une APC à la dose de 0.3 et 1.0 mg/kg, et ont montré que

l'effet aversif du WIN est bloqué par l'antagoniste CB1, le SR141716. Pandolfo et al. (Pandolfo, Vendruscolo et al. 2009) ont aussi rapporté une APC aux doses de 0.25, 1.25 et 2.5 mg/kg de WIN, et montré que l'APC à 0.25 mg/kg est bloquée par l'antagoniste CB1, l'AM251. Enfin, Polissidis et al. (Polissidis, Chouliara et al. 2009) ont rapporté qu'à la dose de 0.1 mg/kg, une dose qui stimule l'activité locomotrice, le WIN ne produit ni PPC ni APC. Ces résultats diffèrent de ceux que nous avons obtenus avec le WIN chez les rats shams. Nous avons vu dans **l'Introduction section 3.2** que le test de PPC est très sensible aux conditions expérimentales. Or, notre procédure est largement différente de celles utilisées dans ces études. Dans notre étude, nous avons réalisé un test de conditionnement après chaque séquence de pairage. Ceci avait comme conséquence de réduire la probabilité d'apparition d'un effet dysphorique causé par des injections répétées de drogues toutes les 48h comme c'était le cas dans les études de Chaperon et al. (Chaperon, Soubrie et al. 1998) et de Pandolfo et al. (Pandolfo, Vendruscolo et al. 2009). Lepore et al. (Lepore, Vorel et al. 1995) ont montré pour le THC que des injections espacées de plus de 48 h étaient nécessaires pour éviter l'apparition d'effet dysphorique et mettre en évidence un effet de récompense avec une faible dose de THC. Nous avons également utilisé une procédure biaisée où les rats étaient conditionnés avec la drogue dans le compartiment préféré à la base; il est plus facile de détecter une aversion dans cette condition. Enfin, nous avons utilisé une enceinte comprenant trois compartiments alors que Chaperon et al. (Chaperon, Soubrie et al. 1998) ont utilisé une enceinte ouverte divisée en deux compartiments. L'utilisation d'une enceinte à deux compartiments apporte une certaine confusion à l'interprétation des résultats. Avec une enceinte à deux compartiments, l'animal n'a pas le choix de se retrouver dans l'un ou dans l'autre. Si l'animal passe plus de temps dans le compartiment associé avec le solvant, est-ce

parce qu'il a développé une aversion pour le compartiment associé avec la drogue ou est-ce parce qu'il a développé une préférence pour le compartiment associé avec le solvant. Si l'animal a développé une aversion pour le compartiment associé avec la drogue, dans une enceinte à trois compartiments, on devrait s'attendre à ce que l'animal passe du temps dans le compartiment neutre et dans le compartiment associé avec le solvant sans préférence pour l'un ou pour l'autre; cette condition permet donc de mieux interpréter les résultats.

La dose de WIN que nous avons utilisée peut être considérée comme une dose moyenne, une dose qui n'inhibe ni ne stimule l'activité locomotrice comme nous avons vu précédemment. Il est donc possible qu'à cette dose, l'effet du WIN dans le test de PPC soit similaire à celui du test d'activité locomotrice, c'est-à-dire que cette dose soit neutre. C'est du moins ce que suggèrent les résultats que nous avons obtenus avec les rats shams. Pour tester cette hypothèse, il faudrait réaliser une étude avec une plus grande gamme de doses avec des rats shams.

Dans le cas des rats NVHL, la tendance à la fuite des rats traités avec le WIN vers le compartiment neutre (**article 1, Figure 7d**) confirme qu'ils ont développé une aversion et non une préférence pour le compartiment associé avec le solvant. Cela suggère aussi qu'ils aient pu développer une aversion pour les deux compartiments, se réfugiant dans le compartiment neutre. Cependant, le temps passé dans le compartiment neutre, aux trois tests de conditionnement, n'était pas significativement différent du temps passé par les rats NVHL associé avec le solvant. Aussi, l'analyse du temps passé dans le compartiment associé à l'injection de solvant (non-préférée) n'a révélé aucune différence significative aux trois tests ou entre les rats NVHL traités avec le solvant vs ceux traités avec le WIN. Ces analyses

permettent de conclure que l'aversion développée par les rats NVHL était spécifique au compartiment associé avec le WIN, donc attribuable à l'effet du WIN. Il est aussi intéressant de noter que cet effet aversif était présent dès le premier jour de test ce qui permet d'exclure la présence d'un effet dysphorique causé par des injections répétées.

Les résultats du test de PPC (ou APC) sont plutôt en contradiction avec ceux que nous avons obtenu avec la locomotion. En règle générale, les drogues qui induisent une augmentation de l'activité locomotrice produisent une PPC et non une APC. Ainsi sur la base des résultats obtenus avec les rats NVHL dans l'étude précédente, on aurait pu s'attendre à ce que le WIN produise une PPC chez les rats NVHL et un effet neutre ou aversif chez les rats shams. L'apparente dichotomie entre les effets d'une drogue sur la l'activité et sur la récompense trouve cependant un certain appui dans la littérature. En effet plusieurs auteurs rapportent que l'action des psychostimulants sur le comportement locomoteur dépend de la transmission dopaminergique au sein de la partie dorsale du NAc (« NAc core ») tandis que leur action sur le comportement de récompense dépend de la transmission dopaminergique au sein de la partie ventrale du NAc (« NAc shell ») (Robledo, Maldonado et al. 1993, Boye, Grant et al. 2001, Sellings and Clarke 2003). La neurotransmission dopaminergique dans l'ATV est fortement modulée par des afférences glutamatergiques et GABAergiques qui sont elles-mêmes modulées par les eCB (Lupica, Riegel et al. 2004). L'activation des récepteurs CB1 réduit la libération synaptique de GABA ce qui a pour conséquence de désinhiber les neurones dopaminergiques; mais cet activation réduit également la libération synaptique de glutamate ce qui a pour conséquence de réduire l'excitation des neurones dopaminergiques, notamment le taux de décharge en bouffée un mode associé à une libération plus élevée de dopamine au niveau des terminaisons (Maldonado, Valverde et al. 2006). Des travaux récents

réalisés avec une technique de pointe, l'optogénétique, ont montré que cette modulation dopaminergique par le GABA et le glutamate est complexe et qu'il diffère entre les sous-populations de cellules dopaminergiques. Lamelle et al. (Lammel, Lim et al. 2012) ont ainsi montré que l'activation des voies glutamatergiques qui innervent et stimulent les neurones dopaminergiques qui projettent au CPF produit une APC chez la souris. Une APC peut également être induite en inhibant les neurones GABAergiques du noyau rostromédian du tegmentum qui innervent les neurones dopaminergiques mésopréfrontal. Par contre, l'activation des voies glutamatergiques qui innervent et stimulent les neurones dopaminergiques qui projettent à la région du shell latéral du NAc produit une PPC. Puisque les récepteurs CB1 modulent ces voies efférentes et que le NAc est fonctionnellement anormal chez les rats NVHL (Goto and O'Donnell 2002), il est possible que l'effet net du WIN résulte en une prédominance de l'activation des voies dopaminergiques projetant au CPF résultant en un effet aversif. Cette hypothèse est certes hautement spéculative puisqu'il n'existe aucune étude des effets du WIN sur ces afférences autant chez les rats normaux que les rats NVHL; elle permet toutefois de tracer des pistes d'investigation future possédant une certaine valeur heuristique.

### **3.1.3 Test d'autostimulation intracérébrale**

Afin de mieux caractériser l'impact motivationnel des cannabinoïdes et notamment l'effet du WIN sur le circuit de récompense, nous avons utilisé le paradigme de l'ASI. Comme nous l'avons mentionné, ce paradigme est un modèle de conditionnement opérant alors que la PPC est un modèle de conditionnement Pavlovien. Dans ce paradigme, on active électriquement le circuit de la récompense puis on évalue l'impact d'une drogue sur cette

activation. Les résultats obtenus au moyen de ce paradigme et présentés dans **l'article 2**, montrent que le WIN produit une atténuation dose-dépendante de la récompense induite par la stimulation électrique intracérébrale chez les rats NVHL et non chez les rats shams. De plus, l'effet atténuateur de la récompense induit par le WIN a été bloqué par l'AM251, montrant qu'il est dû à l'activation des récepteurs CB1. Le WIN a également produit à la plus forte dose une atténuation de la performance, un effet observé autant chez les rats NVHL que les rats shams. Ceci démontre que l'atténuation de la récompense par le WIN reflète une anomalie qui est spécifique aux rats NVHL. À notre connaissance, une seule équipe a testé l'effet du WIN au moyen du paradigme d'ASI chez le rat normal adulte et rapporté des résultats inconsistants d'une étude à l'autre. À la dose de 1 mg/kg, Mavrikaki et al. (Mavrikaki, Markaki et al. 2010) ont rapporté toute à la fois : une atténuation de l'effet de récompense sans modification de la performance; Vlachou et al. (Vlachou, Nomikos et al. 2005) n'ont rapporté aucun effet significatif ni sur la récompense ni sur la performance; alors que Vlachou et al. (Vlachou, Nomikos et al. 2003) ont rapporté une diminution de la performance sans altération de la récompense. De plus, à la dose de 3 mg/kg, Vlachou et al. (Vlachou, Nomikos et al. 2005) ont montré une atténuation de l'effet de récompense accompagnée d'une diminution de la performance. Ces derniers résultats sont en partie en désaccord avec ceux que nous avons obtenus avec les rats shams. En effet, à l'instar de Vlachou et al. (Vlachou, Nomikos et al. 2003) nous avons observé une atténuation de la performance mais pas d'atténuation de la récompense à 3 mg/kg. Nous avons aussi observé une petite augmentation de la récompense à 1 mg/kg accompagné d'une atténuation de la performance. Il est possible que ces différences soient attribuables au site de stimulation du circuit de récompense (voir détails **Méthodologie section 3**). Des études antérieures ont révélé que le choix du site pouvait avoir une certaine

importance lorsqu'on évalue l'effet d'une drogue sur la récompense. Par exemple, Gifuni et al. (Gifuni, Jozaghi et al. 2012) ont montré que l'amplitude de l'augmentation de la récompense induite par l'amphétamine est supérieure lorsque le site de stimulation est localisé dans le FMP en comparaison au mésencéphale postéro-médian. Les raisons qui expliquent cette différence demeurent toujours inconnues. Il est possible toutefois que la stimulation du mésencéphale postéro-médian n'ait pu détecter une altération de l'effet de récompense induit par le WIN. Ceci n'explique toutefois pas les résultats très variables obtenus dans les études précédentes avec la stimulation électrique du FMP.

L'observation d'un effet inhibiteur du WIN sur la récompense chez les rats NVHL dans le paradigme d'ASI, est en accord avec les résultats obtenus avec le paradigme de PPC et renforce l'hypothèse que le WIN produit un effet aversif chez les rats NVHL seulement. Diotte et al. (Diotte, Miguelez et al. 2000) ont montré que la stimulation électrique aversive inhibe la récompense induite par l'ASI. Des drogues telles les agonistes des récepteurs opiacés kappa produisent une APC et inhibent la récompense dans le paradigme d'ASI (Carlezon and Thomas 2009, Knoll and Carlezon 2010). Malheureusement, il n'existe aucune étude sur les effets des agents cannabinoïdes avec des rats NVHL et le paradigme d'ASI. Ceci démontre le caractère original de nos résultats.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus avec le WIN et les trois paradigmes comportementaux démontrent que le système eCB est significativement altéré dans le modèle NVHL, et que l'effet aversif d'un agoniste cannabinoïde est prédominant.

## 3.2 *Études avec le THC*

Deux études ont été réalisées avec l'agent actif du cannabis, le THC. Lors d'une première étude nous avons évalué l'impact motivationnel du THC au moyen du paradigme de PPC. Les animaux ont été testés à l'adolescence (PD35) et à l'âge adulte (PD56). La seconde étude avait pour objectif de déterminer l'impact du THC sur la récompense induite par l'ASI. Une analyse du sommaire des résultats présentés au **Tableau IV-1** permet de remarquer les différences entre les effets motivationnels du THC et du WIN chez les rats shams et les rats NVHL.

### 3.2.1 **Test de préférence de place conditionnée**

Dans le paradigme de la PPC, nous avons rapporté dans **l'article 1** que le THC avait une tendance à induire une APC chez les rats shams. Cette inférence est basée sur le fait qu'à chacun des tests de conditionnement les rats traités avec le THC passaient plus de temps dans le compartiment neutre que les rats traités avec le solvant (**article 1, figure 6c**). Cette fuite vers le compartiment neutre, exempt de toute association, indique que le compartiment associé avec la drogue et le compartiment associé avec le solvant exerce un certain effet aversif. Cependant, même si le compartiment associé au solvant était celui défini comme « non-préférée » à la base par les animaux, il n'y avait pas de différence significative entre la différence du temps passé avant le conditionnement et lors des tests de conditionnement pour les deux groupes (THC et solvant), n'indiquant pas d'aversion spécifique pour ce compartiment. La question demeure donc à savoir pourquoi les rats ont passé significativement plus de temps dans le compartiment neutre. Le fait que les rats traités avec le



THC avaient tendance à passer moins de temps dans le compartiment associé avec la drogue que les rats traités avec le solvant suggère que le THC a pu induire une certaine aversion expliquant l'augmentation du temps passé dans le compartiment neutre.

Dans les études de PPC chez le rat normal, les doses de THC testées étaient soit plus élevées soit plus faibles que celle utilisée dans notre étude, il est donc difficile de faire une comparaison directe. Une chose est claire cependant c'est que peu importe la dose, les résultats obtenus sont très variables d'une étude à l'autre. Certaines rapportent une aversion d'autre une préférence (voir **la section 3.2 de l'Introduction**). De plus, comme nous l'avons mentionné précédemment pour les études avec le WIN, le protocole de séquence d'injections semble jouer un rôle dans l'induction d'un effet aversif ou d'une préférence. Enfin, l'utilisation dans certaines études, notamment pas le groupe de Gardner, de souches de rats présentant une sensibilité différente de la plupart des souches habituellement utilisés à l'effet motivationnel des drogues d'abus, c'est-à-dire les rats Lewis et les rats Fischer344, rend la comparaison des résultats encore plus inadéquates. Les études réalisées avec la même souche de rat (Sprague-Dawley) pour une dose deux fois plus forte soit 1 mg/kg, rapporte soit une APC (Parker and Gillies 1995), soit une absence de tout effet (Vlachou, Nomikos et al. 2007) pour des injections espacées de 48h. Il est envisageable que l'allongement de la période entre chaque injection et la dose plus faible que nous avons utilisée aient contribué à réduire l'effet aversif du THC ressenti par les rats shams. Si subtile soit-elle, la tendance d'un effet aversif observée chez les rats shams adultes n'était clairement pas visible chez les rats adolescents à PD35. Ceci suggère que l'impact motivationnel du THC varie au cours du développement. À notre connaissance une seule étude a évalué l'impact motivationnel du THC chez les rats adolescents au moyen du paradigme de PPC. Quinn et al. (Quinn, Matsumoto et al. 2008) n'ont

rapporté aucun effet de conditionnement d'une dose de 5 mg/kg de THC chez des rats âgés de 34 à 52 jours (début et fin du test de conditionnement) alors que les rats adultes (âgés de 66 à 84 jours) ont développé une aversion prononcée et durable. Malgré le fait que la dose utilisée soit 10 fois plus élevée, les résultats vont dans la même direction que les nôtres.

L'objectif principal de l'étude était de déterminer l'effet du THC dans le modèle de PPC chez les rats NVHL. Or les résultats montrent que la tendance à l'aversion que nous avons observée chez les rats shams n'était pas présente chez les rats NVHL. Au fil des tests de conditionnement, les rats traités avec le THC avaient plutôt tendance à passer plus de temps dans le compartiment associé avec le THC que les rats NVHL traités avec le solvant; encore ici il n'y avait cependant pas de différence significative entre les deux groupes (groupe THC-solvant et groupe solvant-solvant, **article 1, figure 6d**). Aussi, les animaux des deux groupes avaient tendance à augmenter leur temps passé dans le compartiment neutre ce qui suggère que le THC n'a pas induit d'effet différent du solvant. Il faut certes être prudent avant de tirer une conclusion quelconque sur la base de résultats obtenus avec une seule dose; les résultats suggèrent tout de même que les rats NVHL répondent différemment des rats shams au THC dans le test de PPC et justifient une étude plus approfondie.

### **3.2.2 Test d'autostimulation intracérébrale**

Dans le paradigme de l'ASI, on a retrouvé chez les rats shams adultes un effet similaire à celui observé dans le paradigme de PPC. En effet, le THC à la même dose de 0.5 mg/kg a produit une augmentation significative du seuil de récompense, reflétant une atténuation de l'effet de récompense induit par la stimulation électrique. Deux observations méritent l'attention. La première est que l'atténuation du seuil de récompense n'était pas accompagnée

d'un changement significatif du taux maximum de réponses. Selon Miliaressis et al. (Miliaressis, Rompre et al. 1986) cela signifie que l'effet du THC sur la récompense est spécifique et ne peut être attribué à une diminution de la capacité de l'animal à produire la réponse. La seconde est que l'effet atténuateur du THC est tardif, il arrive plus de deux heures après l'injection. Un effet tardif est plutôt inattendu puisque Petit et al. (Petit, Jeantaud et al. 1999) ont montré qu'à une dose de THC de 5.8 mg/kg, l'effet inhibiteur maximal sur la liaison du [<sup>3</sup>H]WIN55,212-2 aux membranes cérébelleuses de souris est atteinte 30 min après l'injection. Chez le rat, les effets de l'administration d'une dose de 2.5 mg/kg et de 10 mg/kg de THC sur l'utilisation locale du glucose dans différentes aires cérébrales est visible également dès 30 min. après l'injection, et une diminution de l'activité locomotrice est mesurée 15 min. après l'injection (Whitlow, Freedland et al. 2002). On peut s'attendre à ce que la concentration cérébrale de THC diminue avec le temps. Dans cette condition on peut prédire qu'une dose plus faible aurait permis de mettre en évidence un effet inhibiteur plus hâtif. Il semble toutefois que ce ne soit pas le cas. Certaines études ont évalué l'effet de plusieurs doses de THC sur l'ASI. Katsidoni et al. (Katsidoni, Kastellakis et al. 2013) ont rapporté une augmentation de la récompense à 0.1 mg/kg et une atténuation à 1 mg/kg, les deux effets observés entre 20 et 100 min. après l'injection. Katsidoni et al. (Katsidoni, Kastellakis et al. 2013) ont aussi observé une augmentation de l'activité locomotrice avec la dose de 0.1 mg/kg, un effet observé entre 90 et 120 min. après l'injection. Une étude précédente a aussi rapporté une inhibition de la récompense à la dose de THC de 1 mg/kg mais pas à la dose de 0.5 mg/kg; dans cette étude on n'a toutefois pas testé l'effet du THC sur une longue période de temps (Vlachou, Nomikos et al. 2007). En opposition, une troisième étude utilisant les mêmes méthodes de mesure de la récompense et la même souche de rats n'a

rapporté aucun changement de la récompense après l'injection de 0.5 et 1.0 mg/kg de THC; la dose la plus élevée avait tendance à atténuer la récompense mais cette augmentation n'a pas atteint le niveau de signification statistique ((Fokos and Panagis 2010); Figure 2b). Il est pertinent de noter que dans cette dernière étude l'effet du THC n'a été testé qu'entre 10-30 min après l'injection. Tel que mentionné précédemment, le site de stimulation peut expliquer la différence de sensibilité. Dans les études de (Vlachou, Nomikos et al. 2007), (Katsidoni, Kastellakis et al. 2013), et (Fokos and Panagis 2010), l'électrode de stimulation était localisée dans le FMP alors que dans notre étude l'électrode était localisée dans le mésencéphale postéro-médian. On note cependant que les résultats obtenus sont en partie en accord avec les résultats que nous avons obtenus avec nos rats shams puisqu'ils montrent que l'effet du THC est durable et qu'une atténuation de la récompense semble prédominer à des doses plus élevées.

Les résultats obtenus avec le paradigme de l'ASI montrent de nouveau que l'effet comportemental des cannabinoïdes diffère entre les rats NVHL et les rats shams. En effet, le THC n'a produit aucun changement de la récompense induite par la stimulation électrique chez les rats NVHL. Une augmentation de l'indice M50 a été observé après la première heure de test (**Article 2, Figure 3b**) mais cela autant chez les rats traités avec le solvant que les rats traités avec le THC. Aucune étude à ce jour n'a évalué l'effet du THC dans le modèle NVHL au moyen du paradigme de l'ASI. Nos résultats ne peuvent donc pas être comparés et sont tout à fait originaux. Il est pertinent de souligner que les résultats que nous avons obtenus avec le paradigme d'ASI sont similaires à ceux obtenus avec le paradigme de PPC. Ils montrent que les rats NVHL sont moins sensibles à l'effet aversif du THC que les rats shams. Il serait nécessaire de tester une gamme plus large de doses de THC chez les rats NVHL pour

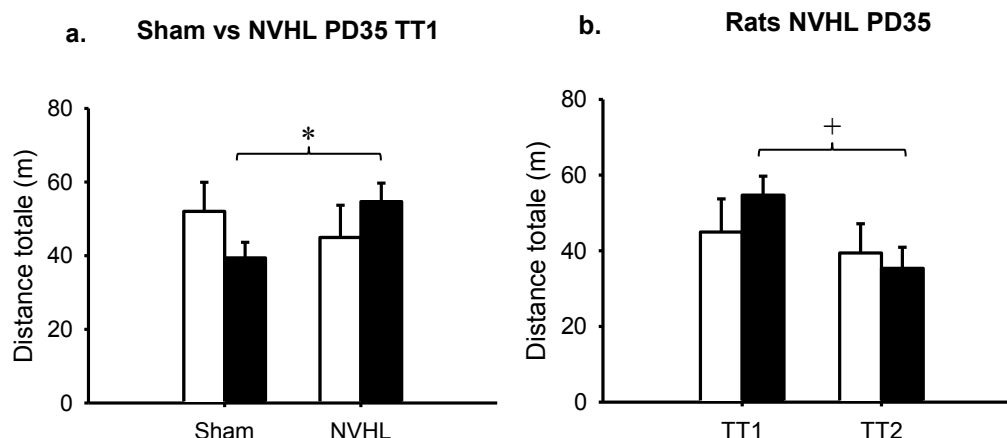
confirmer cette hypothèse. Dans la mesure où elle serait confirmée, elle suggérerait que la pathologie qui sous-tend la schizophrénie tend à induire une baisse de sensibilité à l'effet aversif du THC, l'agent psychoactif principal du cannabis. Cette hypothèse n'est pas en désaccord avec les études épidémiologiques montrant que les patients atteints de schizophrénie consomment plus de cannabis que les individus sains puisqu'elle prédit que l'effet de récompense serait prédominant. Nos résultats montrent qu'une investigation plus approfondie de cette hypothèse au moyen d'un modèle animal de la maladie est tout à fait justifié.

### ***3.3 Un système eCB déjà altéré à l'adolescence ?***

Dans les sections précédentes, la discussion a porté principalement sur les résultats obtenus avec le modèle NVHL à l'âge adulte. Bien qu'aucune différence significative n'ait pu être mise en évidence par les analyses générales effectuées parmi les rats testés à l'adolescence, une analyse plus attentive permet de faire ressortir ce qui pourrait représenter un indice d'anomalie prodromale des symptômes développés à l'âge adulte. C'est notamment le cas avec les tests effectués réalisés avec le WIN.

Le test d'activité locomotrice a été effectué selon un protocole intra-sujet où chacun des rats recevaient chacun des traitements, ces derniers étaient contrebalancés. L'analyse des groupes ne révèle aucune distinction entre les rats shams et NVHL (voir **article 1**). Cependant si l'on s'attarde à regarder l'impact du moment du traitement sur la mesure d'activité locomotrice ambulatoire (traitement 1=TT1 vs traitement 2=TT2), nous nous sommes aperçus que lorsque les rats reçoivent le WIN en TT1, nous avons une hyperactivité locomotrice chez

les rats NVHL vs les shams (**Figure IV-1a**,  $F_{(1,8)} = 5.35$ ,  $p = 0.049$ ). Cependant, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre le traitement avec le solvant vs le WIN pour les rats shams et NVHL. D'autre part, nous avons mesuré que les rats NVHL ayant reçu du WIN en TT1 ont une activité locomotrice significativement plus élevée que les rats l'ayant reçu en TT2 (**Figure IV-1b**,  $F(1,6) = 6.66$ ,  $p = 0.042$ ); bien qu'à nouveau aucune différence entre les traitements solvant et WIN n'ait pu être identifiée. À l'image de ces résultats, dans le test de PPC avec le WIN à PD35, nous avons également mesuré une hyperactivité locomotrice des rats NVHL traités avec le WIN vs ceux traités avec le solvant ( $F_{(1,18)} = 6.29$ ,  $p = 0.02$ ). Par contre nous ne montrons pas de différence significative entre les rats shams et NVHL traités avec le WIN dans ce test. Même si les résultats obtenus en locomotion ne sont pas complètement reproduit avec le test de PPC, il est intéressant de noter que dans les deux cas, nous montrons une hyperactivité locomotrice en réponse à la première injection de WIN chez les rats NVHL; la répétition d'injection semble atténuer cet effet.



**Figure IV-1:** Effet de l'ordre de traitement avec une injection de WIN (1 mg/kg, i.p) sur l'activité locomotrice chez des rats shams et NVHL à PD35.

**(a)** Analyse du test Traitement 1 seulement (TT1) pour les rats shams et NVHL traités avec le solvant ou le WIN. Les *barres blanches* représentent le traitement avec le solvant, les *barres noires* celui avec le WIN. Le nombre de rats par groupes est le suivant : solvant n=5 rats shams et 4 rats NVHL, WIN n=6 rats shams et 4 rats NVHL. **(b)** Étude contrebalancée en mode intra-sujet avec une injection de solvant et de WIN en Traitement 1 ou en Traitement 2 (TT1 ou TT2) chez les rats NVHL. Le nombre de rats par groupes est le suivant : TT1 solvant n=4 et WIN n=4. \* indique une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les rats shams traités avec le WIN et les rats NVHL traités avec le WIN en TT1, + indique une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les rats NVHL traités avec le WIN en TT1 et ceux traités avec le WIN en TT2. Détails dans le texte.

Cette différence de résultats entre le test d'activité locomotrice et la PPC peut s'expliquer par l'impact de la nouveauté de l'environnement. En effet, dans le cas des tests d'activité locomotrice, lors de TT1, les rats expérimentent pour la première fois cet environnement en plus d'être exposés pour la première fois à la drogue. Ainsi il est raisonnable de penser que l'effet observé est la résultante de la combinaison d'un effet d'hyperactivité locomotrice en réponse à la nouveauté avec celui de la drogue, qui se dissiperait à TT2. Néanmoins, ceci n'est pas le cas pour les tests en PPC. En effet les rats sont exposés pendant 3 jours à l'environnement avant de recevoir leur première injection de WIN, et pourtant les rats NVHL traités avec le WIN sont significativement plus actifs que ceux traités avec le solvant. Selon Lipska et al. (Lipska, Jaskiw et al. 1993), ce modèle ne montre pas d'effets sur l'activité

locomotrice en réponse à la nouveauté avant l'âge adulte. Ainsi, nous pouvons conclure que l'hyperactivité locomotrice en réponse à une première injection de WIN n'est due qu'à la drogue elle-même. Quant à l'absence de reproduction en PPC de la différence observée entre les rats shams vs NVHL en réponse à l'injection de WIN dans le test d'activité locomotrice, ceci peut être expliquée par la différence du paradigme expérimental de mesure.

La mise en évidence d'effets significatifs à PD35 avec le WIN dans différents tests était inattendue considérant les données de la littérature. En effet, il est important de rappeler que dans leur revue Tseng et al. (Tseng, Chambers et al. 2009) donnent l'évolution dans le temps de l'apparition des symptômes ressemblant à ceux de la schizophrénie. Ils rapportent que bien que les anomalies « positives » (l'hyperactivité locomotrice en réponse au stress et à l'amphétamine) reproduits avec ce modèle n'apparaissent qu'en fin d'adolescence/début de l'âge adulte, les anomalies « négatives » (déficit d'interaction sociale, comportement agressif) et « cognitives » (déficit mémoires spatiale et de travail) de ce modèle sont présents dès l'adolescence. L'hypersensibilité locomotrice au WIN (**Figure IV-1**), accompagnée de la tendance des rats NVHL traités avec le WIN à présenter une APC (aversion de place conditionnée, **Article 1, Fig.7b**) à l'adolescence se rapprochent plus des symptômes « positifs » que « négatifs » ou « cognitifs » comparables à ceux des patients atteints de schizophrénie. Aussi la présence de cette « anomalie positive » comportementale est surprenante dans ces deux tests. Le manque d'étude des cannabinoïdes avec ce modèle animal de schizophrénie ne nous permet pas d'apporter une explication autre qu'hypothétique. En s'intéressant à d'autres modèles animaux de maladie psychiatrique, nous nous sommes rendus compte que les mêmes résultats obtenus dans nos analyses avec les modèles NVHL sont également observés dans un modèle SHR (Pandolfo, Pamplona et al. 2007). Les auteurs



montrent que les rats adolescents SHR présentent une hyperactivité locomotrice par rapport aux rats normaux, à une dose de WIN similaire à celle utilisée dans notre étude. Cette même équipe rapporte également une absence de PPC ou APC à cet âge chez des rats SHR (Pandolfo, Vendruscolo et al. 2009). Bien que l'on ne puisse pas véritablement comparer les deux maladies, il est intéressant de noter qu'elles présentent certaines similitudes que nous avons déjà détaillées à la **section 3.1 de la Discussion générale**.

En continuité avec les résultats obtenus avec le modèle SHR, une autre hypothèse peut être proposée : celle de la perturbation du rôle modulateur du système eCB chez les rats NVHL, la lésion provoquerait plusieurs altérations dans la connectivité entre les régions corticales et sous-corticales (voir **Introduction section 4.1.4, Discussion générale section 3.1**). Sachant que nous avons observé une hyperactivité locomotrice au WIN chez les rats NVHL adolescents par rapport aux rats shams, cela indique qu'une atteinte du SNC durant le développement joue un rôle critique sur la sensibilité au WIN. En effet, le système eCB du rongeur et de l'homme est impliqué dans la maturation cérébrale à la fois durant la période gestationnelle et la période se prolongeant jusqu'à la fin d'adolescence (Rodriguez de Fonseca, Ramos et al. 1993, Fernandez-Ruiz, Gomez et al. 2004, Berghuis, Rajnicsek et al. 2007). Chez le rongeurs, les auteurs montrent qu'il y a une augmentation des récepteurs CB1 au sein du striatum, des aires limbiques et du mésencéphale ventral qui atteint un pic autour de PD30-PD40 (milieu adolescence), suivi d'une chute de leur nombre au cours de l'âge adulte (Rodriguez de Fonseca, Ramos et al. 1993). Plus spécifiquement, il y a une rapide augmentation des récepteurs CB1 au sein du cortex somato-sensoriel couplée à une rapide synaptogénèse, et au sein des connexions intercorticales durant la période entre PD6 et PD16 (Deshmukh, Onozuka et al. 2007). Les auteurs concluent que le système eCB est fortement

impliqué très tôt dans le développement pour moduler la topographie corticale. La lésion néonatale de l'HPCv réalisée durant cette période critique, à PD6-7 chez nos animaux, provoque une altération du système eCB notamment au niveau mésolimbique (Goto and O'Donnell 2002). Ce débalancement modifierait ainsi la sensation de l'animal face à un traitement aux cannabinoïdes. Ces différentes observations permettent d'appuyer l'idée que malgré l'absence d'effet motivationnel du WIN à cette dose à l'adolescence, le système eCB est déjà hypersensibilisé chez les rats NVHL. Comme nous l'avons mentionné, la survenue des anomalies positives seulement à l'âge adulte suggère la nécessité d'une complète maturation du cerveau pour leur expression. Néanmoins, l'évaluation des symptômes positifs sont généralement testés avec des psychostimulants et non des cannabinoïdes. Aussi les dérégulations engendrées par la lésion rentrant en conflit avec le processus de maturation, peut dès l'adolescence perturber les fonctions motrices sans encore modifier significativement celles du renforcement. Ce qui n'est vraisemblablement pas la prérogative des psychostimulants, qui nécessitent la complète maturation cérébrale pour discerner leur effets moteurs et renforçants chez les animaux de type « schizophrénique ».

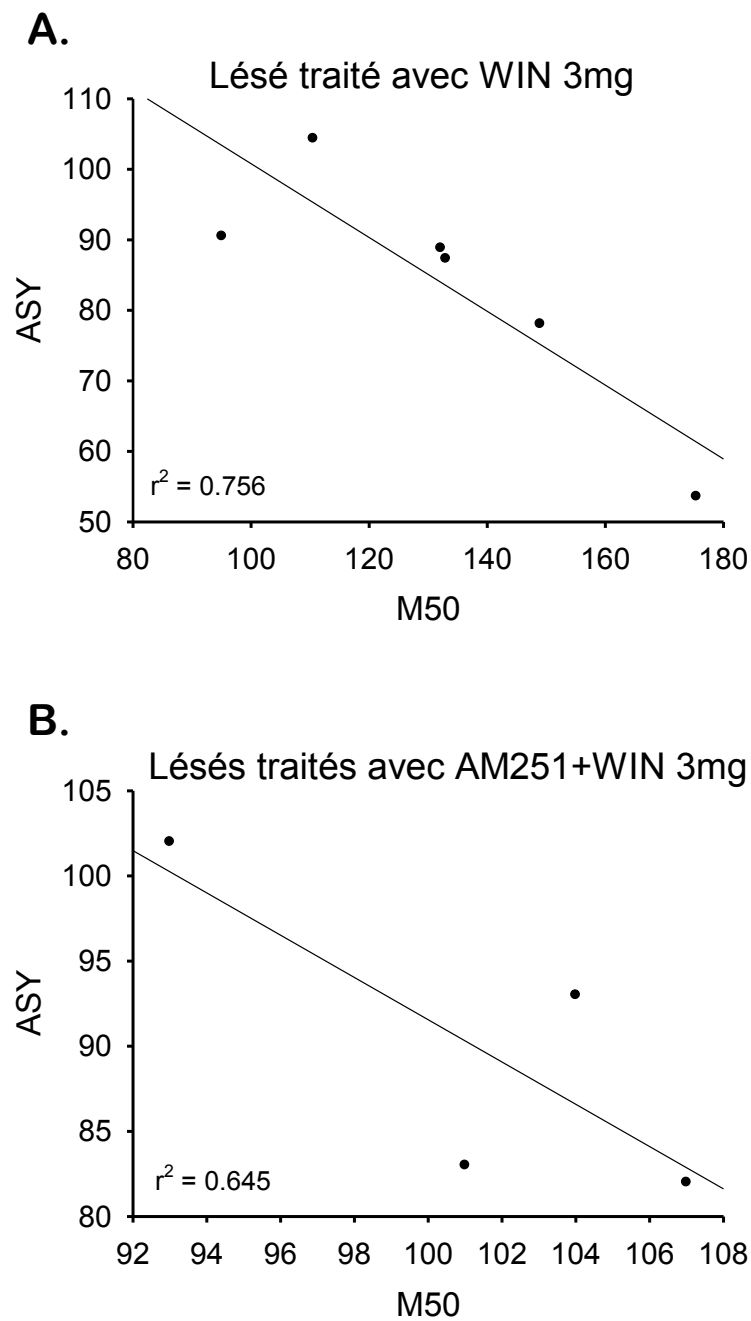
Ces résultats inattendus obtenus à l'adolescence suggèrent que l'étude approfondie des cannabinoïdes dans le modèle NVHL pourrait conduire à la caractérisation d'anomalies prodromales. Cette particularité que semble avoir les cannabinoïdes accentue leur rôle unique qu'ils ont déjà sur l'incidence de la schizophrénie (voir **Introduction section 1.4**). Ceci renforcerait d'autant plus l'usage de ce modèle qui pourrait permettre de développer une procédure pour identifier un prodrome chez l'homme. Ainsi, ils méritent d'être considérés avec attention pour les expériences futures.

#### 4. Effets aversifs du WIN, un phénomène dépendant des récepteurs CB1 ?

Parmi l'ensemble des études que nous avons réalisées, celles avec le WIN ont été les plus probantes à révéler la distinction de l'impact motivationnel des cannabinoïdes entre les rats shams et NVHL à l'âge adulte. En effet, bien que les rats shams semblaient relativement indifférents aux effets du WIN, les rats NVHL ont développé une aversion dose-dépendante pour le WIN. Ceci a pu être mis en évidence à la fois avec les paradigmes de PPC et d'ASI. L'obtention plus rapide de résultats et la plus grande facilité d'exécution nous a encouragés à tester le caractère CB1-dépendant de l'effet induit par le WIN chez les rats NVHL avec le paradigme d'ASI. À cette fin, nous avons co-administré l'AM251, un antagoniste des récepteurs cannabinoïdes CB1, avec la dose la plus forte de WIN (3 mg/kg/3ml i.p), qui provoquait l'effet le plus significatif chez les rats NVHL.

À titre de rappel, les rats NVHL présente une diminution dose-dépendante (WIN 1 et 3 mg/kg, i.p) de l'effet de récompense couplée à une diminution de la performance en réponse à la dose la plus forte de WIN. Ce phénomène s'avérait seulement transitoire car les résultats sont statistiquement significatifs uniquement au cours des 20 premières minutes suivant l'injection de WIN. Chez les rats shams, nous avons seulement observé une diminution de la performance en réponse à l'injection de la dose la plus forte de WIN sans altération du seuil de récompense. Nous avons montré que l'AM251 annule la diminution de l'effet de récompense provoqué par le WIN; mais ne renverse que partiellement la diminution de performance occasionnée par une injection de WIN (voir **article 2**). Ces résultats suggèrent que l'effet du WIN sur la récompense est lié à son action sur les récepteurs CB1, tandis que l'effet sur la performance n'est qu'en partie due à l'activation de ces récepteurs. En effet, nous avons

réalisé une corrélation entre les valeurs obtenues pour le seuil de récompense (M50) et celle pour la performance des animaux (ASY). Ceci afin de déterminer si la variation de l'une des valeurs était explicable par la variation de l'autre. Nous avons effectué deux analyses : la corrélation entre le M50 et l'ASY des rats NVHL traités avec le WIN et la corrélation entre le M50 et l'ASY des rats NVHL co-traités avec l'AM251 3mg/kg et le WIN 3mg/kg (**Figure IV-2**). Dans les deux cas, nous avons mis en évidence une corrélation négative, ce qui signifie que plus la valeur du M50 est élevée (c-à-d plus l'effet de récompense est diminué), plus celle de l'ASY est faible (c-à-d plus la performance est diminuée). Ainsi, pour les rats NVHL traités avec le WIN seulement :  $r = -0.8695$  ( $r^2 = 0.756$ , soit 76 %); pour les rats NVHL traités avec l'AM251+WIN :  $r = -0.8036$  ( $r^2 = 0.645$ , soit 64 %). Ces corrélations indiquent que 76 % de la variation du M50 des rats NVHL traités avec le WIN est explicable par la variation de l'ASY; et seulement 64 % de la variation du M50 des rats NVHL traités avec le WIN et l'AM251 est explicable par la variation de l'ASY. Cette analyse signifie que l'effet de récompense et l'effet sur la performance sont dissociables, montrant ainsi que la variation de l'un n'est pas l'unique cause qui provoque la variation de l'autre.



**Figure IV-2:** Corrélation M50 vs ASY chez les rats NVHL traités avec le WIN seul (3 mg/kg, i.p, **A**) et le WIN coadministré avec l'AM251 (3 mg/kg, i.p, **B**). Voir détails dans le texte.

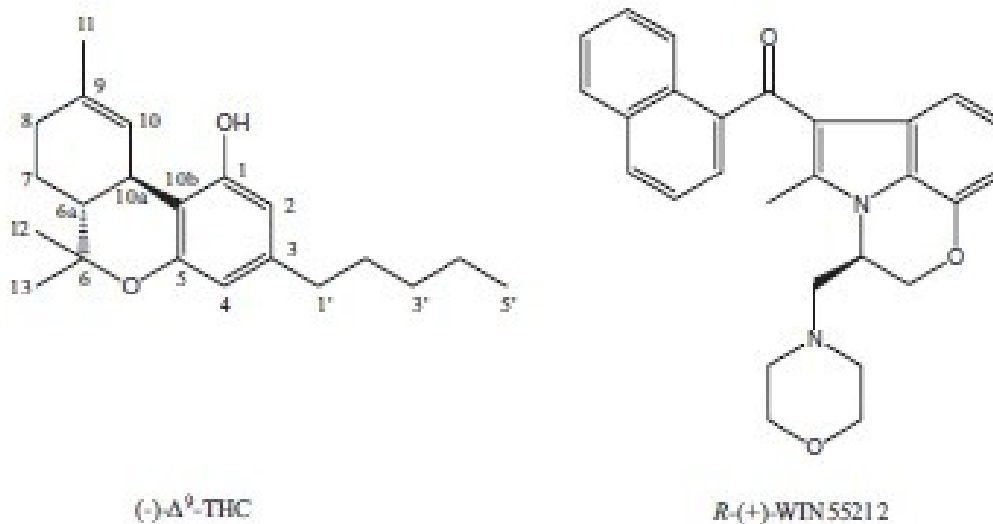
Une question légitime avant l'intervention d'autres récepteurs pour expliquer ce résultat est celle de la dose d'AM251 utilisée. En effet, nous avons utilisé une dose égale d'AM251 et de WIN. Or bien que la constante d'affinité ( $K_i$ ) pour ces deux molécules est de l'ordre du nanomolaire, le WIN apparaît légèrement plus spécifique que l'AM251 :  $K_i$  (WIN) = 1.89 nM et  $K_i$  (AM251) = 7.49 nM (Pertwee 2010). Il est donc raisonnable de penser qu'une dose supérieure d'AM251 puisse être nécessaire pour bloquer complètement les effets du WIN. Le peu d'études évaluant le caractère CB1-dépendant de l'effet motivationnel du WIN dans les paradigmes comportementaux tels que l'ASI et la PPC, utilisent le SR141716A comme antagoniste plutôt que l'AM251 (Vlachou, Nomikos et al. 2005). Le SR141716A a également une constante d'affinité proche de celle du WIN :  $K_i$  (SR141716A) = 1.8 nM (Pertwee 2010). En s'appuyant sur les données de la littérature, la dose d'AM251 de 3 mg/kg choisie pour notre étude apparaissait efficace dans le cadre de la mesure de l'effet motivationnel des drogues d'abus (Vinklerova, Novakova et al. 2002, Vlachou, Nomikos et al. 2005, Xi, Spiller et al. 2008). Cependant, dans d'autres études testant l'AM251 en compétition avec le WIN dans le cadre de l'apprentissage et du sommeil, utilisent des doses d'AM251 deux à quatre fois supérieure à celle du WIN pour bloquer l'effet du WIN (Abush and Akirav 2010, Goonawardena, Plano et al. 2011, Madronal, Gruart et al. 2012). Ainsi, ces observations tendent à indiquer qu'une dose supérieure d'AM251 à celle du WIN dans nos études d'ASI aurait potentiellement pu complètement renverser l'effet du WIN.

Nous nous attacherons dans la section suivante à discuter les éventuelles influences d'autres récepteurs que le CB1 pouvant expliquer à la fois le blocage partiel par l'AM251 des effets motivationnels du WIN mais aussi la dichotomie entre les résultats obtenus avec les rats shams et NVHL pour le THC et le WIN.

## 5. THC vs WIN : des effets comportementaux opposés

Les résultats que nous avons obtenus avec les deux paradigmes comportementaux permettant de tester l'effet motivationnel du THC et du WIN ont révélé des différences importantes entre les rats NVHL et les rats shams adultes. Mais alors que les rats NVHL étaient plus sensibles à l'effet aversif du WIN, ceux-ci avaient une tendance à être moins sensibles à l'effet aversif du THC. Les propriétés pharmacologiques du THC et du WIN peuvent apporter un début d'explication de ces différences. Tel que mentionné à la **section 2.4 de l'Introduction**, le THC fait partie de la classe des composés cannabinoïdes synthétiques dite *classique* tandis que le WIN fait partie de la classe dite *aminoalkylindole*. La **Figure IV-3** illustre la structure moléculaire des deux cannabinoïdes. La structure moléculaire d'un composé détermine ses propriétés pharmacodynamiques soit l'affinité pour le ou les récepteurs et l'efficacité à activer le ou les récepteurs. On peut noter que la structure moléculaire du THC et du WIN sont largement différentes. Le THC est un agoniste partiel et possède une affinité pour le récepteur CB1 et CB2 de l'ordre de 5-80 nM et 3-75 nM respectivement (valeurs de  $K_i$ , (Pertwee 2010, Pertwee, Howlett et al. 2010). L'effet physiologique d'un agoniste partiel varie selon l'état du système de neurotransmission, si le système est hyperfonctionnel, l'agoniste partiel agit comme un antagoniste; si le système est hypoactif, il agit plutôt comme un agoniste. Le WIN est un agoniste complet CB1 et CB2, son affinité pour ces récepteurs est respectivement de 1-123 nM et 0.3-16 nM. À titre d'exemple, il est cent fois plus efficace pour inhiber l'activité synaptique glutamatergique que le THC (Shen and Thayer 1999). Ainsi les résultats obtenus suggèrent que l'impact motivationnel des agents cannabinoïdes dans le modèle NVHL peut dépendre largement de leurs propriétés

pharmacodynamiques. Fautes de connaissances approfondies dans ce domaine, qui ne constituent pas l'objet de ce projet, nous ne développerons pas plus cette hypothèse.



**Figure IV-3 :** Structures moléculaires du THC et du WIN.  
Modifiée de (Pertwee, Howlett et al. 2010).

Un autre aspect important est le fait que le WIN et le THC possède une affinité élevée pour le récepteurs CB2. Toutefois il semble que la majorité des effets motivationnels des agents cannabinoïdes soient dus à leur action au niveau des récepteurs CB1 (Vlachou and Panagis 2013). Nous savons que le THC en tant qu'agoniste partiel, a aussi la capacité de se lier à d'autres récepteurs qui peuvent influencer la sensation d'aversion ou de renforcement qu'il procure. Considérons par exemple les récepteurs TRPV. Ils jouent un rôle important dans la thermo-sensation, la nociception et ont des fonctions multiples au sein de l'appareil digestif (Nilius and Owsianik 2011). Ils sont également coexprimés avec les récepteurs CB1 et modulent la signalisation eCB et les mécanismes dopaminergiques selon des interactions complexes (Chahl 2007, Fernandez-Ruiz, Hernandez et al. 2010). Bien qu'il soit peu probable qu'une si faible dose de THC puisse provoquer l'activation de cet autre type de récepteurs, la



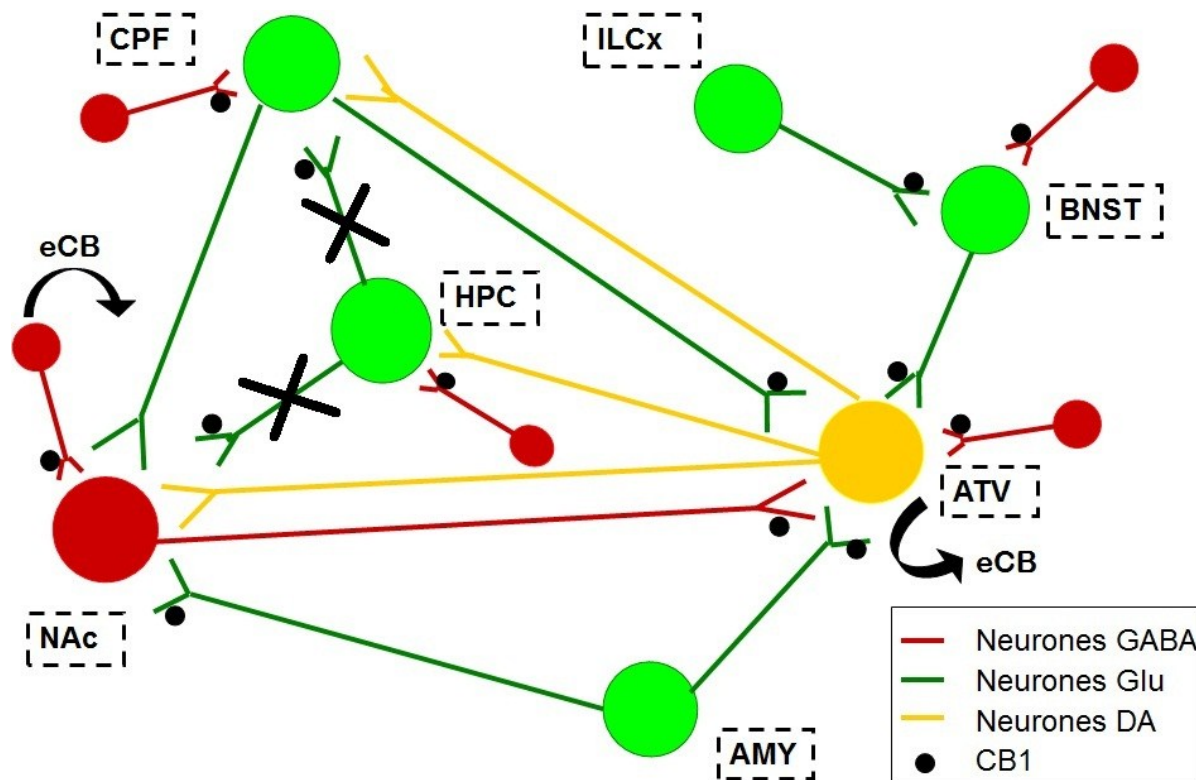
coexpression et l'interaction complexe que les récepteurs CB1 et TRPV1 possède n'excluent pas leur implication éventuelle dans la modulation des effets du THC même à faible dose. Comme nous l'avons mentionné à la **section 4 de la Discussion**, l'interaction du WIN avec d'autres récepteurs pourrait être à l'origine du renversement partiel des effets du WIN par l'AM251. Cette alternative semble peu probable puisque le WIN est un agoniste complet CB1/CB2 et que ces affinités pour d'autres récepteurs tels que ceux de la famille des TRP est de l'ordre du micromolaire. De même, l'AM251 est un antagoniste hautement spécifique pour les CB1. Son affinité pour les CB2 est de l'ordre du micromolaire et il ne se lie pas aux récepteurs de la famille des TRP. Ainsi le renversement partiel des effets du WIN par l'AM251 est fort probablement dû à un effet de dose (voir **Discussion générale section 4**).

Au-delà de l'impact différentiel de ces molécules sur les différents récepteurs CB et autres, le fait qu'elles produisent un effet différent chez les rats shams et NVHL indique que le phénotype des animaux modifie la sensibilisation à ces molécules. L'altération hypothétique du système eCB causée par la lésion NVHL, semble avoir rendu ces animaux indifférents au THC et hypersensibilisés au WIN (une tendance vers des résultats inverses pour les rats shams). Hormis dû à l'absence de dose-réponse effectuée avec le THC, cette apparente hyposensibilité aux effets du THC pourrait s'expliquer par la diminution des récepteurs cannabinoïdes disponibles suite à la lésion. Si l'on considère que les CB1 sont localisés notamment sur les terminaisons glutamatergiques qui seraient supprimées par la lésion, on pourrait s'attendre à une réduction du nombre de CB1 disponibles. Ainsi dû au statut d'agoniste partiel du THC et à l'éventuelle réduction du nombre de récepteurs CB1 disponibles, le THC ne serait pas en mesure de provoquer son effet aversif optimal sur les récepteurs CB1, dont un début d'effet est présent chez les rats shams. Le WIN, étant quant à

lui un agoniste complet, il peut occuper plus efficacement l'ensemble des récepteurs CB restants. Il n'est pas non plus à exclure que l'impact neurodéveloppemental de la lésion ait pu déclencher la mise en place de mécanismes compensatoires créant un état d'hypersensibilité du système eCB ou des systèmes de neurotransmission qu'il module. Cet état serait ainsi révélé par la spécificité du WIN à stimuler ce système aux doses testées dans cette étude.

Pour tenter d'expliquer cet état d'hypersensibilité des rats NVHL face au WIN, nous proposons l'hypothèse suivante : la lésion excitotoxique que nous avons réalisé détruit les neurones glutamatergiques au sein de l'HPCv et ceux projetant au moment de la lésion vers le CPF (**Figure IV-4**). Les récepteurs cannabinoïdes sont généralement présents sur les terminaisons synaptiques glutamatergiques et GABAergiques. La lésion va donc réduire le nombre de récepteurs cannabinoïdes disponibles dans cette zone. Cette réduction de leur nombre va donc entraîner une diminution du rétrocontrôle négatif glutamatergique, préalablement effectué par la présence des récepteurs cannabinoïdes sur les projections HPC-PFC. La levée de ce rétrocontrôle va provoquer une augmentation de l'activité glutamatergique issue du CPF et projetant sur les aires sous-corticales telles que le NAc et l'ATV, impliquées dans les phénomènes de récompense. La sur-stimulation de ces zones serait ainsi à l'origine de l'état d'hypersensibilité mise en évidence chez les rats NVHL. De plus, à la **section 3.1 de la Discussion générale**, nous avons émis une hypothèse hautement spéculative d'un effet net du WIN sur le système de récompense qui ferait intervenir majoritairement les projections dopaminergiques de l'ATV vers le CPF résultant en une APC pour le WIN. Cette voie serait privilégiée dû aux dysfonctions du NAc chez les rats NVHL. Comme nous pouvons le constater à la **Figure IV-4**, les neurones dopaminergiques de l'ATV projettent sur l'HPC également. Or le modèle NVHL visent les projections glutamatergiques de l'HPC vers le CPF

et possiblement le NAc. Ainsi, nous pouvons considérer que même si la voie dopaminergique ATV-HPC n'est pas affectée, le message ne pourra pas être propagé correctement au-delà de l'HPC. Généralement, toutes atteintes au niveau cérébral provoquent la mise en place de mécanismes compensatoires pour pallier aux mieux aux dysfonctions résultantes de ces anomalies. Cependant, dans le cas présenté ici il est très difficile d'émettre une conclusion ou une hypothèse solide pour expliquer l'hypersensibilité des rats NVHL aux effets aversifs du WIN. Les récepteurs CB1 étant distribués de manière ubiquitaire au sein du SNC, et le système eCB ayant un rôle de modulateur du SNC suivant son état et suivant les régions impliquées, l'effet net d'une substance et même de la lésion est presque impossible à élucider; d'autant plus que les études sur ce sujet sont rares. Il n'en reste pas moins que cela peut fournir de futurs angles de réflexion pour clarifier les effets motivationnels des cannabinoïdes au sein de ce modèle.



**Figure IV-4:** Schéma illustrant la relation entre le système eCB et les voies reliant différentes régions du système limbique après lésion NVHL.

Schéma identique à la **Figure I-8 de l'Introduction section 2.5**, avec croix noires rajoutées sur les projections glutamatergiques de l'HPC sur le PFC et le NAc. Ces croix symbolisent le résultat hypothétique provoqué par la lésion NVHL. *Abréviations* : AMY : amygdale, ATV : aire tegmentale ventrale, CIL : cortex infralimbique, CPF : cortex préfrontal, eCB : endocannabinoïdes, HPC : hippocampe, NLST : noyaux du lit de la strie terminale (« BNST » bed nucleus of the stria terminalis »). Adapté de (Laviolette and Grace 2006, Maldonado, Valverde et al. 2006, Massi, Elezgarai et al. 2008).

## **6. Implications pour les études cliniques et futures directions**

Les études réalisées dans le cadre de ce projet sont uniques, puisqu'à notre connaissance aucune étude n'a été réalisée à ce jour sur les effets motivationnels des agents cannabinoïdes, à l'âge adulte et à l'adolescence, dans un modèle animal de la schizophrénie. Puisqu'il s'agit de résultats nouveaux, obtenus avec deux molécules et un nombre limité de doses, toute tentative d'extrapolation à l'humain est prématurée. Une telle extrapolation peut toutefois permettre de dégager de nouvelles pistes d'investigation pour les études futures.

Rappelons que chez l'humain, les patients atteints de schizophrénie consomment plus de cannabis que la population en général. Une hypothèse que nous avons proposée pour expliquer cette consommation élevée est que les patients sont soit plus sensibles aux effets de récompense du cannabis soit moins sensibles aux effets aversifs. Les résultats que nous avons obtenus infirment cette hypothèse dans la mesure où nous avons observé chez les animaux NVHL adultes une prédominance de l'effet aversif dans les paradigmes qui mesurent la motivation, le CPP et l'ASI. Assumons donc pour un instant qu'une prédominance similaire d'effets aversifs apparaît chez le consommateur atteints de schizophrénie en début de consommation. La question se pose donc à savoir pourquoi, si cela leur occasionne des effets désagréables, consommeraient-ils autant cette substance ? Une partie de l'explication peut résider dans l'action conjointe de diverses variables associées à la prise de drogue tel que la recherche d'un apaisement momentané, la reconnaissance sociale et l'ambiance de partage en groupe que la consommation procure. En effet, l'impact social et l'environnement dans lequel se trouve la personne au moment de la consommation influence grandement son rapport à la

substance. Les associations contextuelles (ex : associer un lieu de rencontre pour acheter de la drogue avec l'envie de la prendre ou encore le fameux « café-clope » où la consommation de café rappelle à la personne qu'elle aime fumer une cigarette en même temps) font partie du processus de développement de l'addiction à une drogue et de la rechute suite à un sevrage de la substance (Koob and Le Moal 2001, Bossert, Stern et al. 2011). Le cannabis est une drogue dite « sociable » un peu comme l'alcool ou le tabac, elle est associée au partage du moment avec d'autres personnes; ce contexte n'est pas accessible aux animaux (on ne les place pas en cercle autour d'un feu de camp avec une guitare en chantant du Bob Marley tout en fumant de la marijuana!). Un autre élément important est que nos expériences ont été réalisées en traitement aigu, soit une à trois expositions à la substance seulement. Chez l'homme la consommation de cannabis est répétée voire régulière. Mais, généralement, la première consommation d'une substance n'est pas une expérience agréable : la première bouffée de tabac ou la première consommation d'alcool occasionne le plus souvent des réactions physiques désagréables (toux, irritation, goût amer et prononcé, sensation d'étouffement, étourdissement). Ces symptômes désagréables s'estompent suite à plusieurs répétitions de l'expérience. La motivation de poursuivre cette exposition provient le plus souvent de l'impact social que cela entraîne ou parce que cela soulage un état émotionnel malgré les désagréments que la substance peut procurer. On peut donc se questionner à savoir est-ce que ces variables ont une importance plus grande chez le patient atteint de schizophrénie ? Cela reste à déterminer.

Pour améliorer l'extrapolation des résultats obtenus chez l'animal à l'homme, des expériences en traitement chronique sont nécessaires. Ceci n'a pas été réalisé dans ce projet pour plusieurs raisons : 1) la nécessité d'établir d'abord s'il y a une sensibilité différente aux

cannabinoïdes entre les animaux NVHL et normaux en aigu avant d'évaluer la situation en chronique; 2) les expériences en traitement chronique sont extrêmement coûteuses à la fois en terme de temps et de ressources financières; 3) la difficulté d'obtenir du THC en grande quantité au Canada rends encore plus difficile la réalisation de telles expériences.

Les études futures devraient se concentrer sur les expérimentations suivantes : 1) étudier les effets d'une large gamme de doses de THC et de WIN pour identifier si la prédominance d'effets aversifs des cannabinoïdes se confirme chez les animaux NVHL. Nous avons noté des différences notables des effets comportementaux du WIN et du THC, mais l'utilisation d'une dose unique de THC ne permettait pas de comparer leurs effets; 2) une fois la gamme de dose établie avec des molécules uniques, il serait très intéressant de mettre au point un « cocktail » de cannabinoïdes afin de se rapprocher des associations de molécules présentes dans la plante de cannabis. Par exemple, la combinaison du THC avec le CBD dans un ratio de 20 pour 1 respectivement (basée sur les données du cannabis saisis en 2008, voir Table 2 <http://medicalmarijuana.procon.org/sourcefiles/UMPMC-quarterly-monitoring-report.pdf>) permettrait d'être plus fidèle à la consommation chez l'homme. Idéalement il faudrait pouvoir administrer la plante elle-même, mais bien que cette possibilité existe, elle n'est encore qu'à l'état de prototype et peu d'études sont disponibles avec ces appareillages, notamment pour le cannabis (voir (Lee, Oh et al. 2006, Ypsilantis, Politou et al. 2012)); 3) le pas suivant serait d'évaluer cette comorbidité avec d'autres paradigmes comportementaux mesurant la récompense/motivation comme l'AAIV et l'AAIC. Ces techniques d'exposition chronique nous permettraient d'identifier le pattern de consommation et les comportements associés à l'arrêt et la reprise de consommation. Notons cependant que si la prédominance de l'effet

aversif des cannabinoïdes se confirme, l'utilisation de ces paradigmes ne sera pas possible puisque les animaux ne s'auto-administreront pas la substance. De plus, dans le cas de l'AAIC (auto-administration intracérébrale) il serait possible de tester l'état du système eCB en injectant directement les cannabinoïdes dans différentes zones du cerveau reliées au système de récompense; 4) pour obtenir des réponses encore plus ciblées, il faudra réaliser des expériences faisant intervenir l'aspect moléculaire en mesurant les proportions d'ARNm CB1, des récepteurs CB1/CB2, des niveaux d'eCB chez les animaux NVHL. Ceci permettrait ainsi une évaluation plus directe des altérations du système eCB et la comparaison avec les données obtenus chez l'humain; 5) enfin, nous constatons que de plus en plus d'études se tournent vers le pouvoir antipsychotiques de certain cannabinoïde comme par exemple le cannabidiol. Le système eCB a été trop longtemps exclu de l'approche thérapeutique de la schizophrénie pour des raisons souvent obscures. Or considérant que ce système a une action modulateur sur tous les autres systèmes de neurotransmission, il apparaît curieux que ce dernier soit exclu des démarches de compréhension de la schizophrénie. Il est probable que les altérations des systèmes de neurotransmission comme la dopamine ou la sérotonine trouvent en fait leur origine dans une altération du fonctionnement du système eCB. Il semble donc crucial de poursuivre dans cette voie pour mettre au point des traitements éventuellement plus efficaces. Ceci pouvant être évalué de prime abord dans ce modèle animal.



## 7. Conclusion

Sur la base des résultats disponibles dans la littérature, deux hypothèses ont été proposées :

1. Les rats NVHL seront plus sensibles à l'effet de récompense induit par les cannabinoïdes que les rats contrôles.
2. Les rats NVHL seront moins sensibles à l'effet aversif des cannabinoïdes que les rats contrôles.

L'ensemble des données présentées dans cette étude s'accordent sur le fait que les rats NVHL sont moins sensibles aux effets aversifs du THC et plus sensibles aux effets aversifs du WIN. Les résultats obtenus avec une seule dose de THC appuient la seconde hypothèse alors que ceux obtenus avec le WIN l'infirment. Les résultats obtenus avec le THC pourraient ainsi indiquer que les patients atteints de schizophrénie consomment plus de cannabis car ils n'en ressentent pas autant les effets aversifs. Néanmoins une prudence s'impose puisque le THC seul n'est qu'une partie de la plante véritablement consommée par les patients. Ceux obtenus avec le WIN sont difficilement extrapolables en termes d'impact motivationnel puisque cette molécule n'est pas consommée chez les patients. Néanmoins, cette molécule nous a permis de mesurer de manière plus sélective, bien qu'indirecte, l'état du système eCB qui se trouve altérés chez les rats NVHL. Par extension, il est fort probable que cela soit aussi le cas chez les patients atteints de schizophrénie vue l'implication majeure du cannabis dans l'incidence de cette maladie.

Comme toutes études, et plus encore quand il n'y a pas vraiment de précédent, les limites méthodologiques sont à considérer et éventuellement à corriger pour les futures investigations. Nous les avons évoqué à plusieurs reprises au cours de cette exposé aussi nous offrirons ici un rappel de celle-ci : 1) l'absence d'une gamme de dose pour le THC notamment; 2) l'absence de tests avec une combinaison de cannabinoïdes qui serait plus fidèle à l'expérience vécu chez l'homme par la consommation de la plante de cannabis; 3) l'absence d'une composante plus moléculaire pour identifier les phénomènes qui se produisent au sein même du système de récompense; 4) le faible nombre d'individus par groupe occasionné par les aléas du projet. Rappelons aussi qu'à des fins comparatives et de confirmation de ces données, il serait intéressant de tester l'impact motivationnel des cannabinoïdes avec d'autres modèles animaux de la schizophrénie comme ceux que nous avons mentionné.

Cette étude se place comme pionnière dans le domaine de la comorbidité entre la consommation de cannabis et la schizophrénie chez l'animal. La connaissance grandissante sur la maladie de la schizophrénie et les facteurs qui peuvent la déclencher ou l'aggraver, ainsi que le statut particulier du cannabis au sein de cette maladie pointent dans cette direction. Si les études futures cherchent à avoir une meilleure vision du phénomène expérimenté par les patients, il est indispensable de considérer ces deux aspects conjointement. Ceci permettra au-delà d'une meilleure compréhension, à pouvoir travailler à offrir de meilleurs traitements voir d'établir un prodrome pouvant servir à une détection plus précoce.

# RÉFÉRENCES

---

Abush, H. and I. Akirav (2010). "Cannabinoids modulate hippocampal memory and plasticity." Hippocampus **20**(10): 1126-1138.

Adams, I. B. and B. R. Martin (1996). "Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans." Addiction **91**(11): 1585-1614.

Addington, J. and V. Duchak (1997). "Reasons for substance use in schizophrenia." Acta Psychiatr Scand **96**(5): 329-333.

Ahmed, A. O., P. F. Buckley and M. Hanna (2013). "Neuroimaging schizophrenia: a picture is worth a thousand words, but is it saying anything important?" Curr Psychiatry Rep **15**(3): 345.

Akil, M., B. S. Kolachana, D. A. Rothmond, T. M. Hyde, D. R. Weinberger and J. E. Kleinman (2003). "Catechol-O-methyltransferase genotype and dopamine regulation in the human brain." J Neurosci **23**(6): 2008-2013.

Al-Amin, H. A., D. R. Weinberger and B. K. Lipska (2000). "Exaggerated MK-801-induced motor hyperactivity in rats with the neonatal lesion of the ventral hippocampus." Behav Pharmacol **11**(3-4): 269-278.

Alquicer, G., J. C. Morales-Medina, R. Quirion and G. Flores (2008). "Postweaning social isolation enhances morphological changes in the neonatal ventral hippocampal lesion rat model of psychosis." J Chem Neuroanat **35**(2): 179-187.

Alquicer, G., A. B. Silva-Gomez, F. Peralta and G. Flores (2004). "Neonatal ventral hippocampus lesion alters the dopamine content in the limbic regions in postpubertal rats." Int J Dev Neurosci **22**(2): 103-111.

- Amini, B., P. B. Yang, A. C. Swann and N. Dafny (2004). "Differential locomotor responses in male rats from three strains to acute methylphenidate." Int J Neurosci **114**(9): 1063-1084.
- Amitai, N., S. Semenova and A. Markou (2007). "Cognitive-disruptive effects of the psychotomimetic phencyclidine and attenuation by atypical antipsychotic medications in rats." Psychopharmacology (Berl) **193**(4): 521-537.
- Anderson, J. J., A. M. Kask and T. N. Chase (1996). "Effects of cannabinoid receptor stimulation and blockade on catalepsy produced by dopamine receptor antagonists." Eur J Pharmacol **295**(2-3): 163-168.
- Andreasen, N. C. (1990). "Positive and negative symptoms: historical and conceptual aspects." Mod Probl Pharmacopsychiatry **24**: 1-42.
- Andreasson, S., P. Allebeck, A. Engstrom and U. Rydberg (1987). "Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of Swedish conscripts." Lancet **2**(8574): 1483-1486.
- Arnold, J. C., A. A. Boucher and T. Karl (2012). "The yin and yang of cannabis-induced psychosis: the actions of Delta(9)-tetrahydrocannabinol and cannabidiol in rodent models of schizophrenia." Curr Pharm Des **18**(32): 5113-5130.
- Arseneault, L., M. Cannon, R. Poulton, R. Murray, A. Caspi and T. E. Moffitt (2002). "Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study." BMJ **325**(7374): 1212-1213.
- Ashe, P. C., J. Chlan-Fourney, A. V. Juorio and X. M. Li (2002). "Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA in rats with neonatal ibotenic acid lesions of the ventral hippocampus." Brain Res **956**(1): 126-135.
- Audet, M. C., S. Goulet and F. Y. Dore (2009). "Impaired social motivation and increased aggression in rats subchronically exposed to phencyclidine." Physiol Behav **96**(3): 394-398.

Backstrom, J. R., M. S. Chang, H. Chu, C. M. Niswender and E. Sanders-Bush (1999). "Agonist-directed signaling of serotonin 5-HT<sub>2C</sub> receptors: differences between serotonin and lysergic acid diethylamide (LSD)." Neuropsychopharmacology **21**(2 Suppl): 77S-81S.

Bangalore, S. S., K. M. Prasad, D. M. Montrose, D. D. Goradia, V. A. Diwadkar and M. S. Keshavan (2008). "Cannabis use and brain structural alterations in first episode schizophrenia-a region of interest, voxel based morphometric study." Schizophr Res **99**(1-3): 1-6.

Bayer, S. A., J. Altman, R. J. Russo, X. F. Dai and J. A. Simmons (1991). "Cell migration in the rat embryonic neocortex." J Comp Neurol **307**(3): 499-516.

Begg, M., P. Pacher, S. Batkai, D. Osei-Hyiaman, L. Offertaler, F. M. Mo, J. Liu and G. Kunos (2005). "Evidence for novel cannabinoid receptors." Pharmacol Ther **106**(2): 133-145.

Belujon, P., M. H. Patton and A. A. Grace (2013). "Disruption of prefrontal cortical-hippocampal balance in a developmental model of schizophrenia: reversal by sulpiride." Int J Neuropsychopharmacol **16**(3): 507-512.

Beninger, R. J., K. J. Tuerke, J. K. Forsyth, A. Giles, L. Xue, R. J. Boegman and K. Jhamandas (2009). "Neonatal ventral hippocampal lesions in male and female rats: effects on water maze, locomotor activity, plus-maze and prefrontal cortical GABA and glutamate release in adulthood." Behav Brain Res **202**(2): 198-209.

Berg, S. A. and R. A. Chambers (2008). "Accentuated behavioral sensitization to nicotine in the neonatal ventral hippocampal lesion model of schizophrenia." Neuropharmacology **54**(8): 1201-1207.

Berg, S. A., C. L. Czachowski and R. A. Chambers (2011). "Alcohol seeking and consumption in the NVHL neurodevelopmental rat model of schizophrenia." Behav Brain Res **218**(2): 346-349.

Berg, S. A., A. M. Sentir, B. S. Cooley, E. A. Engleman and R. A. Chambers (2013). "Nicotine is more addictive, not more cognitively therapeutic in a neurodevelopmental model of schizophrenia produced by neonatal ventral hippocampal lesions." Addict Biol.

Berghuis, P., A. M. Rajnicek, Y. M. Morozov, R. A. Ross, J. Mulder, G. M. Urban, K. Monory, G. Marsicano, M. Matteoli, A. Canty, A. J. Irving, I. Katona, Y. Yanagawa, P. Rakic, B. Lutz, K. Mackie and T. Harkany (2007). "Hardwiring the brain: endocannabinoids shape neuronal connectivity." Science **316**(5828): 1212-1216.

Bertrand, J. B., J. B. Langlois, M. Begou, J. Volle, P. Brun, T. d'Amato, M. Saoud and M. F. Suaud-Chagny (2010). "Longitudinal MRI monitoring of brain damage in the neonatal ventral hippocampal lesion rat model of schizophrenia." Hippocampus **20**(2): 264-278.

Bossert, J. M., A. L. Stern, F. R. Theberge, C. Cifani, E. Koya, B. T. Hope and Y. Shaham (2011). "Ventral medial prefrontal cortex neuronal ensembles mediate context-induced relapse to heroin." Nat Neurosci **14**(4): 420-422.

Bowers, M. B., Jr., C. M. Mazure, J. C. Nelson and P. I. Jatlow (1990). "Psychotogenic drug use and neuroleptic response." Schizophr Bull **16**(1): 81-85.

Boye, S. M., R. J. Grant and P. B. Clarke (2001). "Disruption of dopaminergic neurotransmission in nucleus accumbens core inhibits the locomotor stimulant effects of nicotine and D-amphetamine in rats." Neuropharmacology **40**(6): 792-805.

Boye, S. M., R. J. Grant and V. L. Tawfik (2007). "Intracranial self-stimulation of the dorsal raphe sensitizes psychostimulant locomotion." Behav Neurosci **121**(3): 550-558.

Boye, S. M. and P. P. Rompre (1996). "Mesencephalic substrate of reward: axonal connections." J Neurosci **16**(10): 3511-3520.

- Boye, S. M. and P. P. Rompre (2000). "Behavioral evidence of depolarization block of dopamine neurons after chronic treatment with haloperidol and clozapine." J Neurosci **20**(3): 1229-1239.
- Brady, A. M., S. E. McCallum, S. D. Glick and P. O'Donnell (2008). "Enhanced methamphetamine self-administration in a neurodevelopmental rat model of schizophrenia." Psychopharmacology (Berl) **200**(2): 205-215.
- Braff, D. L. and M. A. Geyer (1990). "Sensorimotor gating and schizophrenia. Human and animal model studies." Arch Gen Psychiatry **47**(2): 181-188.
- Braida, D., S. Iosue, S. Pegorini and M. Sala (2004). "Delta9-tetrahydrocannabinol-induced conditioned place preference and intracerebroventricular self-administration in rats." Eur J Pharmacol **506**(1): 63-69.
- Braida, D., M. Pozzi, D. Parolaro and M. Sala (2001). "Intracerebral self-administration of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in the rat: interaction with the opioid system." Eur J Pharmacol **413**(2-3): 227-234.
- Brown, A. S. (2006). "Prenatal infection as a risk factor for schizophrenia." Schizophr Bull **32**(2): 200-202.
- Brown, A. S. and E. S. Susser (2002). "In utero infection and adult schizophrenia." Ment Retard Dev Disabil Res Rev **8**(1): 51-57.
- Bruder, G. E., J. G. Keilp, H. Xu, M. Shikhan, E. Schori, J. M. Gorman and T. C. Gilliam (2005). "Catechol-O-methyltransferase (COMT) genotypes and working memory: associations with differing cognitive operations." Biol Psychiatry **58**(11): 901-907.
- Burns, J. K. (2013). "Pathways from Cannabis to Psychosis: A Review of the Evidence." Front Psychiatry **4**: 128.

Cahn, W., H. E. Hulshoff Pol, E. Caspers, N. E. van Haren, H. G. Schnack and R. S. Kahn (2004). "Cannabis and brain morphology in recent-onset schizophrenia." Schizophr Res **67**(2-3): 305-307.

Cahn, W., N. E. van Haren, H. E. Hulshoff Pol, H. G. Schnack, E. Caspers, D. A. Laperdier and R. S. Kahn (2006). "Brain volume changes in the first year of illness and 5-year outcome of schizophrenia." Br J Psychiatry **189**: 381-382.

Cannon, M., P. B. Jones and R. M. Murray (2002). "Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review." Am J Psychiatry **159**(7): 1080-1092.

Cannon, T. D., W. Hennah, T. G. van Erp, P. M. Thompson, J. Lonnqvist, M. Huttunen, T. Gasperoni, A. Tuulio-Henriksson, T. Pirkola, A. W. Toga, J. Kaprio, J. Mazziotta and L. Peltonen (2005). "Association of DISC1/TRAX haplotypes with schizophrenia, reduced prefrontal gray matter, and impaired short- and long-term memory." Arch Gen Psychiatry **62**(11): 1205-1213.

Carlezon, W. A., Jr., C. Beguin, J. A. DiNieri, M. H. Baumann, M. R. Richards, M. S. Todtenkopf, R. B. Rothman, Z. Ma, D. Y. Lee and B. M. Cohen (2006). "Depressive-like effects of the kappa-opioid receptor agonist salvinorin A on behavior and neurochemistry in rats." J Pharmacol Exp Ther **316**(1): 440-447.

Carlezon, W. A., Jr. and M. J. Thomas (2009). "Biological substrates of reward and aversion: a nucleus accumbens activity hypothesis." Neuropharmacology **56 Suppl 1**: 122-132.

Carlsson, A. and M. Lindqvist (1963). "Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain." Acta Pharmacol Toxicol (Copenh) **20**: 140-144.



- Carlsson, A., N. Waters, S. Holm-Waters, J. Tedroff, M. Nilsson and M. L. Carlsson (2001). "Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence." Annu Rev Pharmacol Toxicol **41**: 237-260.
- Chahl, L. A. (2007). "TRP's: links to schizophrenia?" Biochim Biophys Acta **1772**(8): 968-977.
- Chambers, R. A., J. Moore, J. P. McEvoy and E. D. Levin (1996). "Cognitive effects of neonatal hippocampal lesions in a rat model of schizophrenia." Neuropsychopharmacology **15**(6): 587-594.
- Chambers, R. A. and D. W. Self (2002). "Motivational responses to natural and drug rewards in rats with neonatal ventral hippocampal lesions: an animal model of dual diagnosis schizophrenia." Neuropsychopharmacology **27**(6): 889-905.
- Chambers, R. A. and J. R. Taylor (2004). "Animal modeling dual diagnosis schizophrenia: sensitization to cocaine in rats with neonatal ventral hippocampal lesions." Biol Psychiatry **56**(5): 308-316.
- Chaperon, F., P. Soubrie, A. J. Puech and M. H. Thiebot (1998). "Involvement of central cannabinoid (CB1) receptors in the establishment of place conditioning in rats." Psychopharmacology (Berl) **135**(4): 324-332.
- Chaperon, F. and M. H. Thiebot (1999). "Behavioral effects of cannabinoid agents in animals." Crit Rev Neurobiol **13**(3): 243-281.
- Cheer, J. F., D. A. Kendall and C. A. Marsden (2000). "Cannabinoid receptors and reward in the rat: a conditioned place preference study." Psychopharmacology (Berl) **151**(1): 25-30.

Chua, S. E., C. Cheung, V. Cheung, J. T. Tsang, E. Y. Chen, J. C. Wong, J. P. Cheung, L. Yip, K. S. Tai, J. Suckling and G. M. McAlonan (2007). "Cerebral grey, white matter and csf in never-medicated, first-episode schizophrenia." Schizophr Res **89**(1-3): 12-21.

Clapcote, S. J., T. V. Lipina, J. K. Millar, S. Mackie, S. Christie, F. Ogawa, J. P. Lerch, K. Trimble, M. Uchiyama, Y. Sakuraba, H. Kaneda, T. Shiroishi, M. D. Houslay, R. M. Henkelman, J. G. Sled, Y. Gondo, D. J. Porteous and J. C. Roder (2007). "Behavioral phenotypes of Disc1 missense mutations in mice." Neuron **54**(3): 387-402.

Conroy, S. K., Z. Rodd and R. A. Chambers (2007). "Ethanol sensitization in a neurodevelopmental lesion model of schizophrenia in rats." Pharmacol Biochem Behav **86**(2): 386-394.

Costa, B., G. Giagnoni, C. Franke, A. E. Trovato and M. Colleoni (2004). "Vanilloid TRPV1 receptor mediates the antihyperalgesic effect of the nonpsychoactive cannabinoid, cannabidiol, in a rat model of acute inflammation." Br J Pharmacol **143**(2): 247-250.

Coyle, J. T. (2004). "The GABA-glutamate connection in schizophrenia: which is the proximate cause?" Biochem Pharmacol **68**(8): 1507-1514.

Crawley, J. N. (1988). "Attenuation of dark-induced hyperlocomotion by a cholecystokinin antagonist in the nucleus accumbens." Brain Res **473**(2): 398-400.

Curran, C., N. Byrappa and A. McBride (2004). "Stimulant psychosis: systematic review." Br J Psychiatry **185**: 196-204.

D'Souza, D. C., W. M. Abi-Saab, S. Madonick, K. Forselius-Bielen, A. Doersch, G. Braley, R. Gueorguieva, T. B. Cooper and J. H. Krystal (2005). "Delta-9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: implications for cognition, psychosis, and addiction." Biol Psychiatry **57**(6): 594-608.

D'Souza, D. C., E. Perry, L. MacDougall, Y. Ammerman, T. Cooper, Y. T. Wu, G. Braley, R. Gueorguieva and J. H. Krystal (2004). "The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis." Neuropsychopharmacology **29**(8): 1558-1572.

Da Silva, G. E., L. F. Vendruscolo and R. N. Takahashi (2005). "Effects of ethanol on locomotor and anxiety-like behaviors and the acquisition of ethanol intake in Lewis and spontaneously hypertensive rats." Life Sci **77**(6): 693-706.

Daniel, D. G., D. R. Weinberger, D. W. Jones, J. R. Zigun, R. Coppola, S. Handel, L. B. Bigelow, T. E. Goldberg, K. F. Berman and J. E. Kleinman (1991). "The effect of amphetamine on regional cerebral blood flow during cognitive activation in schizophrenia." J Neurosci **11**(7): 1907-1917.

Davis, C. M., P. G. Roma, J. M. Dominguez and A. L. Riley (2007). "Morphine-induced place conditioning in Fischer and Lewis rats: acquisition and dose-response in a fully biased procedure." Pharmacol Biochem Behav **86**(3): 516-523.

Davis, K. L., R. S. Kahn, G. Ko and M. Davidson (1991). "Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization." Am J Psychiatry **148**(11): 1474-1486.

De Marchi, N., L. De Petrocellis, P. Orlando, F. Daniele, F. Fezza and V. Di Marzo (2003). "Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia." Lipids Health Dis **2**: 5.

Dean, B., S. Sundram, R. Bradbury, E. Scarr and D. Copolov (2001). "Studies on [3H]CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use." Neuroscience **103**(1): 9-15.

- Del Arco, A. and F. Mora (2009). "Neurotransmitters and prefrontal cortex-limbic system interactions: implications for plasticity and psychiatric disorders." J Neural Transm **116**(8): 941-952.
- Desfosses, J., E. Stip, L. A. Bentaleb, O. Lipp, J. P. Chiasson, A. Furtos, K. Venne, E. Kouassi and S. Potvin (2012). "Plasma Endocannabinoid Alterations in Individuals with Substance Use Disorder are Dependent on the "Mirror Effect" of Schizophrenia." Front Psychiatry **3**: 85.
- Deshmukh, S., K. Onozuka, K. J. Bender, V. A. Bender, B. Lutz, K. Mackie and D. E. Feldman (2007). "Postnatal development of cannabinoid receptor type 1 expression in rodent somatosensory cortex." Neuroscience **145**(1): 279-287.
- Dewey, W. L. (1986). "Cannabinoid pharmacology." Pharmacol Rev **38**(2): 151-178.
- Di Forti, M., C. Morgan, P. Dazzan, C. Pariante, V. Mondelli, T. R. Marques, R. Handley, S. Luzi, M. Russo, A. Paparelli, A. Butt, S. A. Stilo, B. Wiffen, J. Powell and R. M. Murray (2009). "High-potency cannabis and the risk of psychosis." Br J Psychiatry **195**(6): 488-491.
- Di Forti, M., P. D. Morrison, A. Butt and R. M. Murray (2007). "Cannabis use and psychiatric and cognitive disorders: the chicken or the egg?" Curr Opin Psychiatry **20**(3): 228-234.
- Di Marzo, V. (2006). "A brief history of cannabinoid and endocannabinoid pharmacology as inspired by the work of British scientists." Trends Pharmacol Sci **27**(3): 134-140.
- Di Marzo, V. (2009). "The endocannabinoid system: its general strategy of action, tools for its pharmacological manipulation and potential therapeutic exploitation." Pharmacol Res **60**(2): 77-84.
- Di Marzo, V., F. Berrendero, T. Bisogno, S. Gonzalez, P. Cavaliere, J. Romero, M. Cebeira, J. A. Ramos and J. J. Fernandez-Ruiz (2000). "Enhancement of anandamide formation in the

limbic forebrain and reduction of endocannabinoid contents in the striatum of delta9-tetrahydrocannabinol-tolerant rats." J Neurochem **74**(4): 1627-1635.

Diotte, M., M. Miguelez, E. Miliarexis and C. Bielajew (2000). "Interactions between rewarding lateral hypothalamic and aversive nucleus reticularis gigantocellularis stimulation." Behav Brain Res **116**(2): 149-156.

Drews, E., M. Schneider and M. Koch (2005). "Effects of the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 on operant behavior and locomotor activity in rats." Pharmacol Biochem Behav **80**(1): 145-150.

Durivage, A. and E. Miliarexis (1987). "Anatomical dissociation of the substrates of medial forebrain bundle self-stimulation and exploration." Behav Neurosci **101**(1): 57-61.

Edmonds, D. E. and C. R. Gallistel (1974). "Parametric analysis of brain stimulation reward in the rat: III. Effect of performance variables on the reward summation function." J Comp Physiol Psychol **87**(5): 876-883.

Egan, M. F., T. E. Goldberg, B. S. Kolachana, J. H. Callicott, C. M. Mazzanti, R. E. Straub, D. Goldman and D. R. Weinberger (2001). "Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(12): 6917-6922.

Elmer, G. I., A. Brockington, D. A. Gorelick, F. I. Carrol, K. C. Rice, D. Matecka, S. R. Goldberg and R. B. Rothman (1996). "Cocaine cross-sensitization to dopamine uptake inhibitors: unique effects of GBR12909." Pharmacol Biochem Behav **53**(4): 911-918.

Elsohly, M. A. and D. Slade (2005). "Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids." Life Sci **78**(5): 539-548.

- Emamian, E. S., M. Karayiorgou and J. A. Gogos (2004). "Decreased phosphorylation of NMDA receptor type 1 at serine 897 in brains of patients with Schizophrenia." J Neurosci **24**(7): 1561-1564.
- Erhardt, S., K. Blennow, C. Nordin, E. Skogh, L. H. Lindstrom and G. Engberg (2001). "Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia." Neurosci Lett **313**(1-2): 96-98.
- Evans, K., J. McGrath and R. Milns (2003). "Searching for schizophrenia in ancient Greek and Roman literature: a systematic review." Acta Psychiatr Scand **107**(5): 323-330.
- Fadda, P., M. Scherma, M. S. Spano, P. Salis, V. Melis, L. Fattore and W. Fratta (2006). "Cannabinoid self-administration increases dopamine release in the nucleus accumbens." Neuroreport **17**(15): 1629-1632.
- Fattore, L., G. Cossu, C. M. Martellotta and W. Fratta (2001). "Intravenous self-administration of the cannabinoid CB1 receptor agonist WIN 55,212-2 in rats." Psychopharmacology (Berl) **156**(4): 410-416.
- Fattore, L., D. Vigano, P. Fadda, T. Rubino, W. Fratta and D. Parolaro (2007). "Bidirectional regulation of mu-opioid and CB1-cannabinoid receptor in rats self-administering heroin or WIN 55,212-2." Eur J Neurosci **25**(7): 2191-2200.
- Featherstone, R. E., C. L. Burton, R. Coppa-Hopman, Z. Rizos, J. Sinyard, S. Kapur and P. J. Fletcher (2009). "Gestational treatment with methylazoxymethanol (MAM) that disrupts hippocampal-dependent memory does not alter behavioural response to cocaine." Pharmacol Biochem Behav **93**(4): 382-390.

Featherstone, R. E., S. Kapur and P. J. Fletcher (2007). "The amphetamine-induced sensitized state as a model of schizophrenia." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **31**(8): 1556-1571.

Featherstone, R. E., Z. Rizos, J. N. Nobrega, S. Kapur and P. J. Fletcher (2007). "Gestational methylazoxymethanol acetate treatment impairs select cognitive functions: parallels to schizophrenia." Neuropsychopharmacology **32**(2): 483-492.

Fernandez-Ruiz, J., M. Gomez, M. Hernandez, R. de Miguel and J. A. Ramos (2004). "Cannabinoids and gene expression during brain development." Neurotox Res **6**(5): 389-401.

Fernandez-Ruiz, J., M. Hernandez and J. A. Ramos (2010). "Cannabinoid-dopamine interaction in the pathophysiology and treatment of CNS disorders." CNS Neurosci Ther **16**(3): e72-91.

Flagstad, P., B. Y. Glenthøj and M. Didriksen (2005). "Cognitive deficits caused by late gestational disruption of neurogenesis in rats: a preclinical model of schizophrenia." Neuropsychopharmacology **30**(2): 250-260.

Fletcher, P. J., C. C. Tenn, J. Sinyard, Z. Rizos and S. Kapur (2007). "A sensitizing regimen of amphetamine impairs visual attention in the 5-choice serial reaction time test: reversal by a D1 receptor agonist injected into the medial prefrontal cortex." Neuropsychopharmacology **32**(5): 1122-1132.

Flores, G., G. Alquicer, A. B. Silva-Gomez, G. Zaldivar, J. Stewart, R. Quirion and L. K. Srivastava (2005). "Alterations in dendritic morphology of prefrontal cortical and nucleus accumbens neurons in post-pubertal rats after neonatal excitotoxic lesions of the ventral hippocampus." Neuroscience **133**(2): 463-470.

Flores, G., G. K. Wood, J. J. Liang, R. Quirion and L. K. Srivastava (1996). "Enhanced amphetamine sensitivity and increased expression of dopamine D2 receptors in postpubertal rats after neonatal excitotoxic lesions of the medial prefrontal cortex." J Neurosci **16**(22): 7366-7375.

Fokos, S. and G. Panagis (2010). "Effects of delta9-tetrahydrocannabinol on reward and anxiety in rats exposed to chronic unpredictable stress." J Psychopharmacol **24**(5): 767-777.

Fouriez, G. and R. A. Wise (1984). "Current-distance relation for rewarding brain stimulation." Behav Brain Res **14**(1): 85-89.

Freedman, B. and L. J. Chapman (1973). "Early subjective experience in schizophrenic episodes." J Abnorm Psychol **82**(1): 46-54.

French, E. D., K. Dillon and X. Wu (1997). "Cannabinoids excite dopamine neurons in the ventral tegmentum and substantia nigra." Neuroreport **8**(3): 649-652.

Fride, E., A. Fox, E. Rosenberg, M. Faigenboim, V. Cohen, L. Barda, H. Blau and R. Mechoulam (2003). "Milk intake and survival in newborn cannabinoid CB1 receptor knockout mice: evidence for a "CB3" receptor." Eur J Pharmacol **461**(1): 27-34.

Fusar-Poli, P. and P. Politi (2008). "Paul Eugen Bleuler and the birth of schizophrenia (1908)." Am J Psychiatry **165**(11): 1407.

Gaddum, J. H. and K. A. Hameed (1954). "Drugs which antagonize 5-hydroxytryptamine." Br J Pharmacol Chemother **9**(2): 240-248.

Gainetdinov, R. R., L. M. Bohn, T. D. Sotnikova, M. Cyr, A. Laakso, A. D. Macrae, G. E. Torres, K. M. Kim, R. J. Lefkowitz, M. G. Caron and R. T. Premont (2003). "Dopaminergic supersensitivity in G protein-coupled receptor kinase 6-deficient mice." Neuron **38**(2): 291-303.



Gallo, A., S. Lapointe, E. Stip, S. Potvin and P. P. Rompre (2010). "Quetiapine blocks cocaine-induced enhancement of brain stimulation reward." Behav Brain Res **208**(1): 163-168.

Gardner, E. L., W. Paredes, D. Smith, A. Donner, C. Milling, D. Cohen and D. Morrison (1988). "Facilitation of brain stimulation reward by delta 9-tetrahydrocannabinol." Psychopharmacology (Berl) **96**(1): 142-144.

Geyer, M. A. and F. X. Vollenweider (2008). "Serotonin research: contributions to understanding psychoses." Trends Pharmacol Sci **29**(9): 445-453.

Gifuni, A. J., S. Jozaghi, A. C. Gauthier-Lamer and S. M. Boye (2012). "Lesions of the lateral habenula dissociate the reward-enhancing and locomotor-stimulant effects of amphetamine." Neuropharmacology **63**(6): 945-957.

Giuffrida, A., M. Beltramo and D. Piomelli (2001). "Mechanisms of endocannabinoid inactivation: biochemistry and pharmacology." J Pharmacol Exp Ther **298**(1): 7-14.

Giuffrida, A., F. M. Leweke, C. W. Gerth, D. Schreiber, D. Koethe, J. Faulhaber, J. Klosterkötter and D. Piomelli (2004). "Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms." Neuropsychopharmacology **29**(11): 2108-2114.

Giuffrida, A., L. H. Parsons, T. M. Kerr, F. Rodriguez de Fonseca, M. Navarro and D. Piomelli (1999). "Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum." Nat Neurosci **2**(4): 358-363.

Goonawardena, A. V., A. Plano, L. Robinson, B. Platt, R. E. Hampson and G. Riedel (2011). "A Pilot Study into the Effects of the CB1 Cannabinoid Receptor Agonist WIN55,212-2 or the Antagonist/Inverse Agonist AM251 on Sleep in Rats." Sleep Disord **2011**: 178469.

- Goonawardena, A. V., L. Robinson, R. E. Hampson and G. Riedel (2010). "Cannabinoid and cholinergic systems interact during performance of a short-term memory task in the rat." Learn Mem **17**(10): 502-511.
- Gormley, S. and P. P. Rompre (2011). "Blockade of mGLUR5 receptors differentially alters amphetamine-induced enhancement of locomotor activity and of brain stimulation reward." J Psychopharmacol **25**(3): 393-401.
- Gorriti, M. A., F. Rodriguez de Fonseca, M. Navarro and T. Palomo (1999). "Chronic (-)-delta9-tetrahydrocannabinol treatment induces sensitization to the psychomotor effects of amphetamine in rats." Eur J Pharmacol **365**(2-3): 133-142.
- Goswami, S., S. K. Mattoo, D. Basu and G. Singh (2004). "Substance-abusing schizophrenics: do they self-medicate?" Am J Addict **13**(2): 139-150.
- Goto, Y. and P. O'Donnell (2002). "Delayed mesolimbic system alteration in a developmental animal model of schizophrenia." J Neurosci **22**(20): 9070-9077.
- Goto, Y. and P. O'Donnell (2004). "Prefrontal lesion reverses abnormal mesoaccumbens response in an animal model of schizophrenia." Biol Psychiatry **55**(2): 172-176.
- Gourevitch, R., C. Rocher, G. Le Pen, M. O. Krebs and T. M. Jay (2004). "Working memory deficits in adult rats after prenatal disruption of neurogenesis." Behav Pharmacol **15**(4): 287-292.
- Grayson, B., N. F. Idris and J. C. Neill (2007). "Atypical antipsychotics attenuate a sub-chronic PCP-induced cognitive deficit in the novel object recognition task in the rat." Behav Brain Res **184**(1): 31-38.
- Green, B., D. Kavanagh and R. Young (2003). "Being stoned: a review of self-reported cannabis effects." Drug Alcohol Rev **22**(4): 453-460.

Green, M. F., K. H. Nuechterlein, J. M. Gold, D. M. Barch, J. Cohen, S. Essock, W. S. Fenton, F. Frese, T. E. Goldberg, R. K. Heaton, R. S. Keefe, R. S. Kern, H. Kraemer, E. Stover, D. R. Weinberger, S. Zalcman and S. R. Marder (2004). "Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: the NIMH-MATRICES conference to select cognitive domains and test criteria." Biol Psychiatry **56**(5): 301-307.

Gregg, L., C. Barrowclough and G. Haddock (2007). "Reasons for increased substance use in psychosis." Clin Psychol Rev **27**(4): 494-510.

Guimaraes, V. M., A. W. Zuardi, E. A. Del Bel and F. S. Guimaraes (2004). "Cannabidiol increases Fos expression in the nucleus accumbens but not in the dorsal striatum." Life Sci **75**(5): 633-638.

Hall, J., H. C. Whalley, D. E. Job, B. J. Baig, A. M. McIntosh, K. L. Evans, P. A. Thomson, D. J. Porteous, D. G. Cunningham-Owens, E. C. Johnstone and S. M. Lawrie (2006). "A neuregulin 1 variant associated with abnormal cortical function and psychotic symptoms." Nat Neurosci **9**(12): 1477-1478.

Harrison, P. J. (2004). "The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications." Psychopharmacology (Berl) **174**(1): 151-162.

Harrison, P. J. and A. J. Law (2006). "Neuregulin 1 and schizophrenia: genetics, gene expression, and neurobiology." Biol Psychiatry **60**(2): 132-140.

Harrison, P. J. and D. R. Weinberger (2005). "Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence." Mol Psychiatry **10**(1): 40-68; image 45.

Hashimoto, K., T. Fukushima, E. Shimizu, N. Komatsu, H. Watanabe, N. Shinoda, M. Nakazato, C. Kumakiri, S. Okada, H. Hasegawa, K. Imai and M. Iyo (2003). "Decreased

serum levels of D-serine in patients with schizophrenia: evidence in support of the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia." Arch Gen Psychiatry **60**(6): 572-576.

Hedou, G., J. Homberg, J. Feldon and C. A. Heidbreder (2001). "Expression of sensitization to amphetamine and dynamics of dopamine neurotransmission in different laminae of the rat medial prefrontal cortex." Neuropharmacology **40**(3): 366-382.

Heinrichs, R. W. (2003). "Historical origins of schizophrenia: two early madmen and their illness." J Hist Behav Sci **39**(4): 349-363.

Hennah, W., P. Thomson, L. Peltonen and D. Porteous (2006). "Genes and schizophrenia: beyond schizophrenia: the role of DISC1 in major mental illness." Schizophr Bull **32**(3): 409-416.

Henquet, C., R. Murray, D. Linszen and J. van Os (2005). "The environment and schizophrenia: the role of cannabis use." Schizophr Bull **31**(3): 608-612.

Hippius, H. (1999). "A historical perspective of clozapine." J Clin Psychiatry **60 Suppl 12**: 22-23.

Hodgkinson, C. A., D. Goldman, J. Jaeger, S. Persaud, J. M. Kane, R. H. Lipsky and A. K. Malhotra (2004). "Disrupted in schizophrenia 1 (DISC1): association with schizophrenia, schizoaffective disorder, and bipolar disorder." Am J Hum Genet **75**(5): 862-872.

Howes, O. D. and S. Kapur (2009). "The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway." Schizophr Bull **35**(3): 549-562.

Howlett, A. C. (1985). "Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase. Biochemistry of the response in neuroblastoma cell membranes." Mol Pharmacol **27**(4): 429-436.

Howlett, A. C., F. Barth, T. I. Bonner, G. Cabral, P. Casellas, W. A. Devane, C. C. Felder, M. Herkenham, K. Mackie, B. R. Martin, R. Mechoulam and R. G. Pertwee (2002). "International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors." Pharmacol Rev **54**(2): 161-202.

Huotari, M., J. A. Garcia-Horsman, M. Karayiorgou, J. A. Gogos and P. T. Mannisto (2004). "D-amphetamine responses in catechol-O-methyltransferase (COMT) disrupted mice." Psychopharmacology (Berl) **172**(1): 1-10.

Hutcheson, D. M., E. T. Tzavara, C. Smadja, E. Valjent, B. P. Roques, J. Hanoune and R. Maldonado (1998). "Behavioural and biochemical evidence for signs of abstinence in mice chronically treated with delta-9-tetrahydrocannabinol." Br J Pharmacol **125**(7): 1567-1577.

Ichikawa, J. and H. Y. Meltzer (1999). "R(+)-8-OH-DPAT, a serotonin(1A) receptor agonist, potentiated S(-)-sulpiride-induced dopamine release in rat medial prefrontal cortex and nucleus accumbens but not striatum." J Pharmacol Exp Ther **291**(3): 1227-1232.

Iversen, L. (2003). "Cannabis and the brain." Brain **126**(Pt 6): 1252-1270.

Jarbe, T. U., T. Ross, N. V. DiPatrizio, L. Pandarinathan and A. Makriyannis (2006). "Effects of the CB1R agonist WIN-55,212-2 and the CB1R antagonists SR-141716 and AM-1387: open-field examination in rats." Pharmacol Biochem Behav **85**(1): 243-252.

Javitt, D. C. (1987). "Negative schizophrenic symptomatology and the PCP (phencyclidine) model of schizophrenia." Hillside J Clin Psychiatry **9**(1): 12-35.

Javitt, D. C. (2006). "Is the glycine site half saturated or half unsaturated? Effects of glutamatergic drugs in schizophrenia patients." Curr Opin Psychiatry **19**(2): 151-157.

- Javitt, D. C., A. Balla, S. Burch, R. Suckow, S. Xie and H. Serksen (2004). "Reversal of phencyclidine-induced dopaminergic dysregulation by N-methyl-D-aspartate receptor/glycine-site agonists." Neuropsychopharmacology **29**(2): 300-307.
- Jentsch, J. D., A. Tran, D. Le, K. D. Youngren and R. H. Roth (1997). "Subchronic phencyclidine administration reduces mesoprefrontal dopamine utilization and impairs prefrontal cortical-dependent cognition in the rat." Neuropsychopharmacology **17**(2): 92-99.
- Jentsch, J. D., A. Tran, J. R. Taylor and R. H. Roth (1998). "Prefrontal cortical involvement in phencyclidine-induced activation of the mesolimbic dopamine system: behavioral and neurochemical evidence." Psychopharmacology (Berl) **138**(1): 89-95.
- Justinova, Z., M. Solinas, G. Tanda, G. H. Redhi and S. R. Goldberg (2005). "The endogenous cannabinoid anandamide and its synthetic analog R(+)-methanandamide are intravenously self-administered by squirrel monkeys." J Neurosci **25**(23): 5645-5650.
- Justinova, Z., G. Tanda, G. H. Redhi and S. R. Goldberg (2003). "Self-administration of delta9-tetrahydrocannabinol (THC) by drug naive squirrel monkeys." Psychopharmacology (Berl) **169**(2): 135-140.
- Justinova, Z., S. Yasar, G. H. Redhi and S. R. Goldberg (2011). "The endogenous cannabinoid 2-arachidonoylglycerol is intravenously self-administered by squirrel monkeys." J Neurosci **31**(19): 7043-7048.
- Kalivas, P. W. and P. Duffy (1990). "Effect of acute and daily neurotensin and enkephalin treatments on extracellular dopamine in the nucleus accumbens." J Neurosci **10**(9): 2940-2949.

- Kapur, S., G. Remington, C. Jones, A. Wilson, J. DaSilva, S. Houle and R. Zipursky (1996). "High levels of dopamine D2 receptor occupancy with low-dose haloperidol treatment: a PET study." Am J Psychiatry **153**(7): 948-950.
- Kapur, S., R. B. Zipursky and G. Remington (1999). "Clinical and theoretical implications of 5-HT<sub>2</sub> and D<sub>2</sub> receptor occupancy of clozapine, risperidone, and olanzapine in schizophrenia." Am J Psychiatry **156**(2): 286-293.
- Karlsson, R. M., D. M. Kircher, Y. Shaham and P. O'Donnell (2013). "Exaggerated cue-induced reinstatement of cocaine seeking but not incubation of cocaine craving in a developmental rat model of schizophrenia." Psychopharmacology (Berl) **226**(1): 45-51.
- Katsidoni, V., A. Kastellakis and G. Panagis (2013). "Biphasic effects of Delta9-tetrahydrocannabinol on brain stimulation reward and motor activity." Int J Neuropsychopharmacol: 1-12.
- Kellendonk, C., E. H. Simpson and E. R. Kandel (2009). "Modeling cognitive endophenotypes of schizophrenia in mice." Trends Neurosci **32**(6): 347-358.
- Knoll, A. T. and W. A. Carlezon, Jr. (2010). "Dynorphin, stress, and depression." Brain Res **1314**: 56-73.
- Koethe, D., A. Giuffrida, D. Schreiber, M. Hellmich, F. Schultze-Lutter, S. Ruhrmann, J. Klosterkötter, D. Piomelli and F. M. Leweke (2009). "Anandamide elevation in cerebrospinal fluid in initial prodromal states of psychosis." Br J Psychiatry **194**(4): 371-372.
- Koob, G. F. and M. Le Moal (2001). "Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis." Neuropsychopharmacology **24**(2): 97-129.

Koskinen, J., J. Lohonen, H. Koponen, M. Isohanni and J. Miettunen (2009). "Rate of Cannabis Use Disorders in Clinical Samples of Patients With Schizophrenia: A Meta-analysis." Schizophr Bull.

Krabbendam, L. and J. van Os (2005). "Schizophrenia and urbanicity: a major environmental influence--conditional on genetic risk." Schizophr Bull **31**(4): 795-799.

Krystal, J. H., D. C. D'Souza, S. Madonick and I. L. Petrakis (1999). "Toward a rational pharmacotherapy of comorbid substance abuse in schizophrenic patients." Schizophr Res **35 Suppl**: S35-49.

Krystal, J. H., E. B. Perry, Jr., R. Gueorguieva, A. Belger, S. H. Madonick, A. Abi-Dargham, T. B. Cooper, L. Macdougall, W. Abi-Saab and D. C. D'Souza (2005). "Comparative and interactive human psychopharmacologic effects of ketamine and amphetamine: implications for glutamatergic and dopaminergic model psychoses and cognitive function." Arch Gen Psychiatry **62**(9): 985-994.

Laborit, H., P. Huguenard and R. Alluaume (1952). "[A new vegetative stabilizer; 4560 R.P..]." Presse Med **60**(10): 206-208.

Lammel, S., B. K. Lim, C. Ran, K. W. Huang, M. J. Betley, K. M. Tye, K. Deisseroth and R. C. Malenka (2012). "Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area." Nature **491**(7423): 212-217.

Large, M., S. Sharma, M. T. Compton, T. Slade and O. Nielssen (2011). "Cannabis use and earlier onset of psychosis: a systematic meta-analysis." Arch Gen Psychiatry **68**(6): 555-561.

Laruelle, M., A. Abi-Dargham, C. H. van Dyck, R. Gil, C. D. D'Souza, J. Erdos, E. McCance, W. Rosenblatt, C. Fingado, S. S. Zoghbi, R. M. Baldwin, J. P. Seibyl, J. H. Krystal, D. S. Charney and R. B. Innis (1996). "Single photon emission computerized tomography imaging



of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(17): 9235-9240.

Laruelle, M., L. S. Kegeles and A. Abi-Dargham (2003). "Glutamate, dopamine, and schizophrenia: from pathophysiology to treatment." Ann N Y Acad Sci **1003**: 138-158.

Laviolette, S. R. and A. A. Grace (2006). "Cannabinoids Potentiate Emotional Learning Plasticity in Neurons of the Medial Prefrontal Cortex through Basolateral Amygdala Inputs." J Neurosci **26**(24): 6458-6468.

Laviolette, S. R. and A. A. Grace (2006). "The roles of cannabinoid and dopamine receptor systems in neural emotional learning circuits: implications for schizophrenia and addiction." Cell Mol Life Sci **63**(14): 1597-1613.

Le Foll, B., M. Wiggins and S. R. Goldberg (2006). "Nicotine pre-exposure does not potentiate the locomotor or rewarding effects of Delta-9-tetrahydrocannabinol in rats." Behav Pharmacol **17**(2): 195-199.

Le Moal, M. (2005). "Neurobiology of Addiction." from <http://www.myilibrary.com?id=101202>.

Le Pen, G., L. Gaudet, P. Mortas, R. Mory and J. L. Moreau (2002). "Deficits in reward sensitivity in a neurodevelopmental rat model of schizophrenia." Psychopharmacology (Berl) **161**(4): 434-441.

Le Pen, G., R. Gourevitch, F. Hazane, C. Hoareau, T. M. Jay and M. O. Krebs (2006). "Peri-pubertal maturation after developmental disturbance: a model for psychosis onset in the rat." Neuroscience **143**(2): 395-405.

- Le Pen, G., T. M. Jay and M. O. Krebs (2010). "Effect of antipsychotics on spontaneous hyperactivity and hypersensitivity to MK-801-induced hyperactivity in rats prenatally exposed to methylazoxymethanol." J Psychopharmacol.
- Le Pen, G. and J. L. Moreau (2002). "Disruption of prepulse inhibition of startle reflex in a neurodevelopmental model of schizophrenia: reversal by clozapine, olanzapine and risperidone but not by haloperidol." Neuropsychopharmacology **27**(1): 1-11.
- Lecca, D., F. Cacciapaglia, V. Valentini and G. Di Chiara (2006). "Monitoring extracellular dopamine in the rat nucleus accumbens shell and core during acquisition and maintenance of intravenous WIN 55,212-2 self-administration." Psychopharmacology (Berl) **188**(1): 63-74.
- Lee, S. Y., S. M. Oh and K. H. Chung (2006). "Estrogenic effects of marijuana smoke condensate and cannabinoid compounds." Toxicol Appl Pharmacol **214**(3): 270-278.
- Lepore, M., X. Liu, V. Savage, D. Matalon and E. L. Gardner (1996). "Genetic differences in delta 9-tetrahydrocannabinol-induced facilitation of brain stimulation reward as measured by a rate-frequency curve-shift electrical brain stimulation paradigm in three different rat strains." Life Sci **58**(25): PL365-372.
- Lepore, M., S. R. Vorel, J. Lowinson and E. L. Gardner (1995). "Conditioned place preference induced by delta 9-tetrahydrocannabinol: comparison with cocaine, morphine, and food reward." Life Sci **56**(23-24): 2073-2080.
- Lett, B. T. (1989). "Repeated exposures intensify rather than diminish the rewarding effects of amphetamine, morphine, and cocaine." Psychopharmacology (Berl) **98**(3): 357-362.
- Lewander, T. (1992). "Differential development of therapeutic drugs for psychosis." Clin Neuropharmacol **15 Suppl 1 Pt A**: 654A-655A.

Leweke, F. M., A. Giuffrida, D. Koethe, D. Schreiber, B. M. Nolden, L. Kranaster, M. A. Neatby, M. Schneider, C. W. Gerth, M. Hellmich, J. Klosterkotter and D. Piomelli (2007). "Anandamide levels in cerebrospinal fluid of first-episode schizophrenic patients: impact of cannabis use." Schizophr Res **94**(1-3): 29-36.

Leweke, F. M., A. Giuffrida, U. Wurster, H. M. Emrich and D. Piomelli (1999). "Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia." Neuroreport **10**(8): 1665-1669.

Lieberman, J. A., J. M. Kane and J. Alvir (1987). "Provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia." Psychopharmacology (Berl) **91**(4): 415-433.

Lieberman, J. A., T. S. Stroup, J. P. McEvoy, M. S. Swartz, R. A. Rosenheck, D. O. Perkins, R. S. Keefe, S. M. Davis, C. E. Davis, B. D. Lebowitz, J. Severe, J. K. Hsiao and I. Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness (2005). "Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia." N Engl J Med **353**(12): 1209-1223.

Lieberman, J. A., G. D. Tollefson, C. Charles, R. Zipursky, T. Sharma, R. S. Kahn, R. S. Keefe, A. I. Green, R. E. Gur, J. McEvoy, D. Perkins, R. M. Hamer, H. Gu, M. Tohen and H. S. Group (2005). "Antipsychotic drug effects on brain morphology in first-episode psychosis." Arch Gen Psychiatry **62**(4): 361-370.

Lillrank, S. M., B. K. Lipska, B. S. Kolachana and D. R. Weinberger (1999). "Attenuated extracellular dopamine levels after stress and amphetamine in the nucleus accumbens of rats with neonatal ventral hippocampal damage." J Neural Transm **106**(2): 183-196.

Linn, G. S., R. T. O'Keefe, K. Lifshitz, C. Schroeder and D. C. Javitt (2007). "Behavioral effects of orally administered glycine in socially housed monkeys chronically treated with phencyclidine." Psychopharmacology (Berl) **192**(1): 27-38.

- Linszen, D. H., P. M. Dingemans and M. E. Lenior (1994). "Cannabis abuse and the course of recent-onset schizophrenic disorders." Arch Gen Psychiatry **51**(4): 273-279.
- Lipina, T. V., M. Niwa, H. Jaaro-Peled, P. J. Fletcher, P. Seeman, A. Sawa and J. C. Roder (2010). "Enhanced dopamine function in DISC1-L100P mutant mice: implications for schizophrenia." Genes Brain Behav **9**(7): 777-789.
- Lipska, B. K., H. A. al-Amin and D. R. Weinberger (1998). "Excitotoxic lesions of the rat medial prefrontal cortex. Effects on abnormal behaviors associated with neonatal hippocampal damage." Neuropsychopharmacology **19**(6): 451-464.
- Lipska, B. K., G. E. Jaskiw and D. R. Weinberger (1993). "Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic hippocampal damage: a potential animal model of schizophrenia." Neuropsychopharmacology **9**(1): 67-75.
- Lipska, B. K., D. N. Lerman, Z. Z. Khaing and D. R. Weinberger (2003). "The neonatal ventral hippocampal lesion model of schizophrenia: effects on dopamine and GABA mRNA markers in the rat midbrain." Eur J Neurosci **18**(11): 3097-3104.
- Lipska, B. K., N. R. Swerdlow, M. A. Geyer, G. E. Jaskiw, D. L. Braff and D. R. Weinberger (1995). "Neonatal excitotoxic hippocampal damage in rats causes post-pubertal changes in prepulse inhibition of startle and its disruption by apomorphine." Psychopharmacology (Berl) **122**(1): 35-43.
- Lipska, B. K. and D. R. Weinberger (1993). "Delayed effects of neonatal hippocampal damage on haloperidol-induced catalepsy and apomorphine-induced stereotypic behaviors in the rat." Brain Res Dev Brain Res **75**(2): 213-222.

- Lipska, B. K. and D. R. Weinberger (1994). "Subchronic treatment with haloperidol and clozapine in rats with neonatal excitotoxic hippocampal damage." Neuropsychopharmacology **10**(3): 199-205.
- Lipska, B. K. and D. R. Weinberger (1995). "Genetic variation in vulnerability to the behavioral effects of neonatal hippocampal damage in rats." Proc Natl Acad Sci U S A **92**(19): 8906-8910.
- Lipska, B. K. and D. R. Weinberger (2000). "To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test." Neuropsychopharmacology **23**(3): 223-239.
- Liu, L. and M. A. Yenari (2007). "Therapeutic hypothermia: neuroprotective mechanisms." Front Biosci **12**: 816-825.
- Lodge, D. J. and A. A. Grace (2007). "Aberrant hippocampal activity underlies the dopamine dysregulation in an animal model of schizophrenia." J Neurosci **27**(42): 11424-11430.
- Lorrain, D. S., G. M. Arnold and P. Vezina (2000). "Previous exposure to amphetamine increases incentive to obtain the drug: long-lasting effects revealed by the progressive ratio schedule." Behav Brain Res **107**(1-2): 9-19.
- Lupica, C. R. and A. C. Riegel (2005). "Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: a potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of addiction." Neuropharmacology **48**(8): 1105-1116.
- Lupica, C. R., A. C. Riegel and A. F. Hoffman (2004). "Marijuana and cannabinoid regulation of brain reward circuits." Br J Pharmacol **143**(2): 227-234.
- Mackie, K. (2005). "Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system." Handb Exp Pharmacol(168): 299-325.

- Madronal, N., A. Gruart, O. Valverde, I. Espadas, R. Moratalla and J. M. Delgado-Garcia (2012). "Involvement of cannabinoid CB1 receptor in associative learning and in hippocampal CA3-CA1 synaptic plasticity." Cereb Cortex **22**(3): 550-566.
- Maldonado, R., F. Berrendero, A. Ozaita and P. Robledo (2011). "Neurochemical basis of cannabis addiction." Neuroscience **181**: 1-17.
- Maldonado, R., O. Valverde and F. Berrendero (2006). "Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction." Trends Neurosci **29**(4): 225-232.
- Mallet, P. E. and R. J. Beninger (1998). "Delta9-tetrahydrocannabinol, but not the endogenous cannabinoid receptor ligand anandamide, produces conditioned place avoidance." Life Sci **62**(26): 2431-2439.
- Malone, D. T. and D. A. Taylor (2006). "The effect of Delta9-tetrahydrocannabinol on sensorimotor gating in socially isolated rats." Behav Brain Res **166**(1): 101-109.
- Mansbach, R. S. and M. A. Geyer (1989). "Effects of phencyclidine and phencyclidine biologs on sensorimotor gating in the rat." Neuropsychopharmacology **2**(4): 299-308.
- Massi, L., I. Elezgarai, N. Puente, L. Reguero, P. Grandes, O. J. Manzoni and F. Georges (2008). "Cannabinoid receptors in the bed nucleus of the stria terminalis control cortical excitation of midbrain dopamine cells in vivo." J Neurosci **28**(42): 10496-10508.
- Mattay, V. S., T. E. Goldberg, F. Fera, A. R. Hariri, A. Tessitore, M. F. Egan, B. Kolachana, J. H. Callicott and D. R. Weinberger (2003). "Catechol O-methyltransferase val158-met genotype and individual variation in the brain response to amphetamine." Proc Natl Acad Sci U S A **100**(10): 6186-6191.

- Mavrikaki, M., E. Markaki, G. G. Nomikos and G. Panagis (2010). "Chronic WIN55,212-2 elicits sustained and conditioned increases in intracranial self-stimulation thresholds in the rat." Behav Brain Res **209**(1): 114-118.
- McGregor, I. S., C. N. Issakidis and G. Prior (1996). "Aversive effects of the synthetic cannabinoid CP 55,940 in rats." Pharmacol Biochem Behav **53**(3): 657-664.
- Mei, L. and W. C. Xiong (2008). "Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia." Nat Rev Neurosci **9**(6): 437-452.
- Meltzer, H. Y. (1999). "The role of serotonin in antipsychotic drug action." Neuropsychopharmacology **21**(2 Suppl): 106S-115S.
- Meltzer, H. Y., S. Matsubara and J. C. Lee (1989). "Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin2 pKi values." J Pharmacol Exp Ther **251**(1): 238-246.
- Mendez, I. A., M. T. Williams, A. Bhavsar, A. P. Lu, J. L. Bizon and B. Setlow (2009). "Long-lasting sensitization of reward-directed behavior by amphetamine." Behav Brain Res **201**(1): 74-79.
- Mendrek, A., C. D. Blaha and A. G. Phillips (1998). "Pre-exposure of rats to amphetamine sensitizes self-administration of this drug under a progressive ratio schedule." Psychopharmacology (Berl) **135**(4): 416-422.
- Meyer, U. and J. Feldon (2009). "Neural basis of psychosis-related behaviour in the infection model of schizophrenia." Behav Brain Res **204**(2): 322-334.
- Meyer, U. and J. Feldon (2010). "Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia." Prog Neurobiol **90**(3): 285-326.

- Meyer, U., J. Feldon, M. Schedlowski and B. K. Yee (2005). "Towards an immuno-precipitated neurodevelopmental animal model of schizophrenia." Neurosci Biobehav Rev **29**(6): 913-947.
- Miliaressis, E. (1981). "A miniature, moveable electrode for brain stimulation in small animals." Brain Res Bull **7**(6): 715-718.
- Miliaressis, E. and M. LeMoal (1976). "Stimulation of the medial forebrain bundle: behavioral dissociation of its rewarding and activating effects." Neurosci Lett **2**(5): 295-300.
- Miliaressis, E., P. P. Rompre, P. Laviolette, L. Philippe and D. Coulombe (1986). "The curve-shift paradigm in self-stimulation." Physiol Behav **37**(1): 85-91.
- Money, T. T., E. Scarr, M. Udawela, A. S. Gibbons, W. J. Jeon, M. S. Seo and B. Dean (2010). "Treating schizophrenia: novel targets for the cholinergic system." CNS Neurol Disord Drug Targets **9**(2): 241-256.
- Morgan, C. J. and H. V. Curran (2008). "Effects of cannabidiol on schizophrenia-like symptoms in people who use cannabis." Br J Psychiatry **192**(4): 306-307.
- Mueser, K. T., F. Deavers, D. L. Penn and J. E. Cassisi (2013). "Psychosocial treatments for schizophrenia." Annu Rev Clin Psychol **9**: 465-497.
- Muller-Vahl, K. R. and H. M. Emrich (2008). "Cannabis and schizophrenia: towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia." Expert Rev Neurother **8**(7): 1037-1048.
- Mundl, W. J. (1980). "A constant-current stimulator." Physiol Behav **24**(5): 991-993.
- Murray, J. E. and R. A. Bevins (2010). "Cannabinoid conditioned reward and aversion: behavioral and neural processes." ACS Chem Neurosci **1**(4): 265-278.
- Neill, J. C., S. Barnes, S. Cook, B. Grayson, N. F. Idris, S. L. McLean, S. Snigdha, L. Rajagopal and M. K. Harte (2010). "Animal models of cognitive dysfunction and negative



symptoms of schizophrenia: focus on NMDA receptor antagonism." Pharmacol Ther **128**(3): 419-432.

Nestler, E. J. and W. A. Carlezon, Jr. (2006). "The mesolimbic dopamine reward circuit in depression." Biol Psychiatry **59**(12): 1151-1159.

Newell, K. A., C. Deng and X. F. Huang (2006). "Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia." Exp Brain Res **172**(4): 556-560.

Nilius, B. and G. Owsianik (2011). "The transient receptor potential family of ion channels." Genome Biol **12**(3): 218.

Nocjar, C. and J. Panksepp (2002). "Chronic intermittent amphetamine pretreatment enhances future appetitive behavior for drug- and natural-reward: interaction with environmental variables." Behav Brain Res **128**(2): 189-203.

O'Donnell, P., B. L. Lewis, D. R. Weinberger and B. K. Lipska (2002). "Neonatal hippocampal damage alters electrophysiological properties of prefrontal cortical neurons in adult rats." Cereb Cortex **12**(9): 975-982.

O'Neill, K. A. and J. M. Liebman (1987). "Unique behavioral effects of the NMDA antagonist, CPP, upon injection into the medial pre-frontal cortex of rats." Brain Res **435**(1-2): 371-376.

O'Sullivan, S. E. (2007). "Cannabinoids go nuclear: evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors." Br J Pharmacol **152**(5): 576-582.

Okubo, Y., T. Suhara, K. Suzuki, K. Kobayashi, O. Inoue, O. Terasaki, Y. Someya, T. Sassa, Y. Sudo, E. Matsushima, M. Iyo, Y. Tateno and M. Toru (1997). "Decreased prefrontal dopamine D1 receptors in schizophrenia revealed by PET." Nature **385**(6617): 634-636.

Ozawa, K., K. Hashimoto, T. Kishimoto, E. Shimizu, H. Ishikura and M. Iyo (2006). "Immune activation during pregnancy in mice leads to dopaminergic hyperfunction and cognitive

impairment in the offspring: a neurodevelopmental animal model of schizophrenia." Biol Psychiatry **59**(6): 546-554.

Pandolfo, P., F. A. Pamplona, R. D. Prediger and R. N. Takahashi (2007). "Increased sensitivity of adolescent spontaneously hypertensive rats, an animal model of attention deficit hyperactivity disorder, to the locomotor stimulation induced by the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2." Eur J Pharmacol **563**(1-3): 141-148.

Pandolfo, P., L. F. Vendruscolo, R. Sordi and R. N. Takahashi (2009). "Cannabinoid-induced conditioned place preference in the spontaneously hypertensive rat-an animal model of attention deficit hyperactivity disorder." Psychopharmacology (Berl) **205**(2): 319-326.

Papaleo, F., J. N. Crawley, J. Song, B. K. Lipska, J. Pickel, D. R. Weinberger and J. Chen (2008). "Genetic dissection of the role of catechol-O-methyltransferase in cognition and stress reactivity in mice." J Neurosci **28**(35): 8709-8723.

Parker, L. A. and T. Gillies (1995). "THC-induced place and taste aversions in Lewis and Sprague-Dawley rats." Behav Neurosci **109**(1): 71-78.

Paulson, P. E. and T. E. Robinson (1995). "Amphetamine-induced time-dependent sensitization of dopamine neurotransmission in the dorsal and ventral striatum: a microdialysis study in behaving rats." Synapse **19**(1): 56-65.

Paxinos, G. and C. Watson (1986). "The rat brain in stereotaxic coordinates Academic Press." New York: 55-60.

Pertwee, R. G. (2010). "Receptors and channels targeted by synthetic cannabinoid receptor agonists and antagonists." Curr Med Chem **17**(14): 1360-1381.

Pertwee, R. G., A. C. Howlett, M. E. Abood, S. P. Alexander, V. Di Marzo, M. R. Elphick, P. J. Greasley, H. S. Hansen, G. Kunos, K. Mackie, R. Mechoulam and R. A. Ross (2010).

"International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB(1) and CB(2)." Pharmacol Rev **62**(4): 588-631.

Petitot, F., B. Jeantaud, P. Bertrand and A. Imperato (1999). "Cannabinoid penetration into mouse brain as determined by ex vivo binding." Eur J Pharmacol **374**(3): 417-421.

Picchioni, M. M. and R. M. Murray (2007). "Schizophrenia." BMJ **335**(7610): 91-95.

Piomelli, D. (2003). "The molecular logic of endocannabinoid signalling." Nat Rev Neurosci **4**(11): 873-884.

Pistis, M., S. Perra, G. Pillolla, M. Melis, A. L. Muntoni and G. L. Gessa (2004). "Adolescent exposure to cannabinoids induces long-lasting changes in the response to drugs of abuse of rat midbrain dopamine neurons." Biol Psychiatry **56**(2): 86-94.

Pistis, M., G. Porcu, M. Melis, M. Diana and G. L. Gessa (2001). "Effects of cannabinoids on prefrontal neuronal responses to ventral tegmental area stimulation." Eur J Neurosci **14**(1): 96-102.

Pletnikov, M. V., Y. Ayhan, O. Nikolskaia, Y. Xu, M. V. Ovanesov, H. Huang, S. Mori, T. H. Moran and C. A. Ross (2008). "Inducible expression of mutant human DISC1 in mice is associated with brain and behavioral abnormalities reminiscent of schizophrenia." Mol Psychiatry **13**(2): 173-186, 115.

Pogorelov, V. M., J. Nomura, J. Kim, G. Kannan, Y. Ayhan, C. Yang, Y. Taniguchi, B. Abazyan, H. Valentine, I. N. Krasnova, A. Kamiya, J. L. Cadet, D. F. Wong and M. V. Pletnikov (2012). "Mutant DISC1 affects methamphetamine-induced sensitization and conditioned place preference: a comorbidity model." Neuropharmacology **62**(3): 1242-1251.

Polissidis, A., O. Chouliara, A. Galanopoulos, M. Marselos, Z. Papadopoulou-Daifoti and K. Antoniou (2009). "Behavioural and dopaminergic alterations induced by a low dose of WIN 55,212-2 in a conditioned place preference procedure." Life Sci **85**(5-6): 248-254.

Polissidis, A., A. Galanopoulos, G. Naxakis, D. Papahatjis, Z. Papadopoulou-Daifoti and K. Antoniou (2013). "The cannabinoid CB1 receptor biphasically modulates motor activity and regulates dopamine and glutamate release region dependently." Int J Neuropsychopharmacol **16**(2): 393-403.

Potvin, S., E. Kouassi, O. Lipp, R. H. Bouchard, M. A. Roy, M. F. Demers, A. Gendron, G. Astarita, D. Piomelli and E. Stip (2008). "Endogenous cannabinoids in patients with schizophrenia and substance use disorder during quetiapine therapy." J Psychopharmacol **22**(3): 262-269.

Power, B. D., M. Dragovic, A. Jablensky and N. C. Stefanis (2013). "Does accumulating exposure to illicit drugs bring forward the age at onset in schizophrenia?" Aust N Z J Psychiatry **47**(1): 51-58.

Prediger, R. D., D. Fernandes and R. N. Takahashi (2005). "Blockade of adenosine A2A receptors reverses short-term social memory impairments in spontaneously hypertensive rats." Behav Brain Res **159**(2): 197-205.

Prus, A. J., J. R. James and J. A. Rosecrans (2009). Conditioned Place Preference. Methods of Behavior Analysis in Neuroscience. J. J. Buccafusco. Boca Raton (FL).

Quinn, H. R., I. Matsumoto, P. D. Callaghan, L. E. Long, J. C. Arnold, N. Gunasekaran, M. R. Thompson, B. Dawson, P. E. Mallet, M. A. Kashem, H. Matsuda-Matsumoto, T. Iwazaki and I. S. McGregor (2008). "Adolescent rats find repeated Delta(9)-THC less aversive than adult

rats but display greater residual cognitive deficits and changes in hippocampal protein expression following exposure." Neuropsychopharmacology **33**(5): 1113-1126.

Richtand, N. M., R. Ahlbrand, P. S. Horn, B. Chambers, J. Davis and S. Benoit (2012). "Effects of prenatal immune activation and peri-adolescent stress on amphetamine-induced conditioned place preference in the rat." Psychopharmacology (Berl) **222**(2): 313-324.

Riegel, A. C. and C. R. Lupica (2004). "Independent presynaptic and postsynaptic mechanisms regulate endocannabinoid signaling at multiple synapses in the ventral tegmental area." J Neurosci **24**(49): 11070-11078.

Rinaldi-Carmona, M., F. Barth, M. Heaulme, D. Shire, B. Calandra, C. Congy, S. Martinez, J. Maruani, G. Neliat, D. Caput and et al. (1994). "SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor." FEBS Lett **350**(2-3): 240-244.

Robbins, T. W. (2007). "Shifting and stopping: fronto-striatal substrates, neurochemical modulation and clinical implications." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **362**(1481): 917-932.

Robinson, T. E. and K. C. Berridge (1993). "The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction." Brain Res Brain Res Rev **18**(3): 247-291.

Robledo, P., R. Maldonado and G. F. Koob (1993). "Neurotensin injected into the nucleus accumbens blocks the psychostimulant effects of cocaine but does not attenuate cocaine self-administration in the rat." Brain Res **622**(1-2): 105-112.

Rodriguez de Fonseca, F., J. A. Ramos, A. Bonnin and J. J. Fernandez-Ruiz (1993). "Presence of cannabinoid binding sites in the brain from early postnatal ages." Neuroreport **4**(2): 135-138.

- Romppe, P. P. and E. Miliareisis (1980). "A comparison of the excitability cycles of the hypothalamic fibers involved in self-stimulation and exploration." Physiol Behav **24**(5): 995-998.
- Romppe, P. P. and E. Miliareisis (1985). "Pontine and mesencephalic substrates of self-stimulation." Brain Res **359**(1-2): 246-259.
- Rottanburg, D., A. H. Robins, O. Ben-Arie, A. Teggin and R. Elk (1982). "Cannabis-associated psychosis with hypomanic features." Lancet **2**(8312): 1364-1366.
- Russig, H., A. Durrer, B. K. Yee, C. A. Murphy and J. Feldon (2003). "The acquisition, retention and reversal of spatial learning in the morris water maze task following withdrawal from an escalating dosage schedule of amphetamine in wistar rats." Neuroscience **119**(1): 167-179.
- Russig, H., C. A. Murphy and J. Feldon (2002). "Clozapine and haloperidol reinstate latent inhibition following its disruption during amphetamine withdrawal." Neuropsychopharmacology **26**(6): 765-777.
- Russo, E. B. and J. M. McPartland (2003). "Cannabis is more than simply delta(9)-tetrahydrocannabinol." Psychopharmacology (Berl) **165**(4): 431-432; author reply 433-434.
- Sagvolden, T. (2000). "Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD)." Neurosci Biobehav Rev **24**(1): 31-39.
- Sagvolden, T. and J. A. Sergeant (1998). "Attention deficit/hyperactivity disorder--from brain dysfunctions to behaviour." Behav Brain Res **94**(1): 1-10.

- Sakaue, M., P. Somboonthum, B. Nishihara, Y. Koyama, H. Hashimoto, A. Baba and T. Matsuda (2000). "Postsynaptic 5-hydroxytryptamine(1A) receptor activation increases in vivo dopamine release in rat prefrontal cortex." Br J Pharmacol **129**(5): 1028-1034.
- Sakurai, Y., H. Ohta, T. Shimazoe, Y. Kataoka, M. Fujiwara and S. Ueki (1985). "delta 9-Tetrahydrocannabinol elicited ipsilateral circling behavior in rats with unilateral nigral lesion." Life Sci **37**(23): 2181-2185.
- Salzet, M., C. Breton, T. Bisogno and V. Di Marzo (2000). "Comparative biology of the endocannabinoid system possible role in the immune response." Eur J Biochem **267**(16): 4917-4927.
- Sams-Dodd, F., B. K. Lipska and D. R. Weinberger (1997). "Neonatal lesions of the rat ventral hippocampus result in hyperlocomotion and deficits in social behaviour in adulthood." Psychopharmacology (Berl) **132**(3): 303-310.
- Sanudo-Pena, M. C., K. Tsou, E. R. Delay, A. G. Hohman, M. Force and J. M. Walker (1997). "Endogenous cannabinoids as an aversive or counter-rewarding system in the rat." Neurosci Lett **223**(2): 125-128.
- Scheibel, A. B. and A. S. Conrad (1993). "Hippocampal dysgenesis in mutant mouse and schizophrenic man: is there a relationship?" Schizophr Bull **19**(1): 21-33.
- Schneider, M. and M. Koch (2005). "Deficient social and play behavior in juvenile and adult rats after neonatal cortical lesion: effects of chronic pubertal cannabinoid treatment." Neuropsychopharmacology **30**(5): 944-957.
- Schwarcz, R., A. Rassoulpour, H. Q. Wu, D. Medoff, C. A. Tamminga and R. C. Roberts (2001). "Increased cortical kynurenate content in schizophrenia." Biol Psychiatry **50**(7): 521-530.

- Seeman, P., T. Lee, M. Chau-Wong and K. Wong (1976). "Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors." Nature **261**(5562): 717-719.
- Sellings, L. H. and P. B. Clarke (2003). "Segregation of amphetamine reward and locomotor stimulation between nucleus accumbens medial shell and core." J Neurosci **23**(15): 6295-6303.
- Sharir, H. and M. E. Abood (2010). "Pharmacological characterization of GPR55, a putative cannabinoid receptor." Pharmacol Ther **126**(3): 301-313.
- Shen, M. and S. A. Thayer (1999). "Delta9-tetrahydrocannabinol acts as a partial agonist to modulate glutamatergic synaptic transmission between rat hippocampal neurons in culture." Mol Pharmacol **55**(1): 8-13.
- Shizgal, P., C. Bielajew, D. Corbett, R. Skelton and J. Yeomans (1980). "Behavioral methods for inferring anatomical linkage between rewarding brain stimulation sites." J Comp Physiol Psychol **94**(2): 227-237.
- Shoblock, J. R., I. M. Maisonneuve and S. D. Glick (2003). "Differences between d-methamphetamine and d-amphetamine in rats: working memory, tolerance, and extinction." Psychopharmacology (Berl) **170**(2): 150-156.
- Silva-Gomez, A. B., D. Rojas, I. Juarez and G. Flores (2003). "Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical and hippocampal pyramidal neurons in postweaning social isolation rats." Brain Res **983**(1-2): 128-136.
- Smith, S. E., J. Li, K. Garbett, K. Mirnics and P. H. Patterson (2007). "Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6." J Neurosci **27**(40): 10695-10702.



Spano, M. S., P. Fadda, R. Frau, L. Fattore and W. Fratta (2010). "Cannabinoid self-administration attenuates PCP-induced schizophrenia-like symptoms in adult rats." Eur Neuropsychopharmacol **20**(1): 25-36.

Spano, M. S., L. Fattore, F. Cadeddu, W. Fratta and P. Fadda (2013). "Chronic cannabinoid exposure reduces phencyclidine-induced schizophrenia-like positive symptoms in adult rats." Psychopharmacology (Berl) **225**(3): 531-542.

Spence, S. J., J. A. Silverman and D. Corbett (1985). "Cortical and ventral tegmental systems exert opposing influences on self-stimulation from the prefrontal cortex." Behav Brain Res **17**(2): 117-124.

St Clair, D., D. Blackwood, W. Muir, A. Carothers, M. Walker, G. Spowart, C. Gosden and H. J. Evans (1990). "Association within a family of a balanced autosomal translocation with major mental illness." Lancet **336**(8706): 13-16.

Stark, P. and P. B. Dews (1980). "Cannabinoids. I. Behavioral effects." J Pharmacol Exp Ther **214**(1): 124-130.

Steffens, M., C. Engler, J. Zentner and T. J. Feuerstein (2004). "Cannabinoid CB1 receptor-mediated modulation of evoked dopamine release and of adenylyl cyclase activity in the human neocortex." Br J Pharmacol **141**(7): 1193-1203.

Stip, E. (2000). "Novel antipsychotics: issues and controversies. Typicality of atypical antipsychotics." J Psychiatry Neurosci **25**(2): 137-153.

Sullivan, P. F., K. S. Kendler and M. C. Neale (2003). "Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies." Arch Gen Psychiatry **60**(12): 1187-1192.

- Svizenska, I., P. Dubovy and A. Sulcova (2008). "Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures--a short review." Pharmacol Biochem Behav **90**(4): 501-511.
- Swerdlow, N. R., N. Halim, F. M. Hanlon, A. Platten and P. P. Auerbach (2001). "Lesion size and amphetamine hyperlocomotion after neonatal ventral hippocampal lesions: more is less." Brain Res Bull **55**(1): 71-77.
- Tanda, G., P. Munzar and S. R. Goldberg (2000). "Self-administration behavior is maintained by the psychoactive ingredient of marijuana in squirrel monkeys." Nat Neurosci **3**(11): 1073-1074.
- Taylor, J. R. and J. D. Jentsch (2001). "Repeated intermittent administration of psychomotor stimulant drugs alters the acquisition of Pavlovian approach behavior in rats: differential effects of cocaine, d-amphetamine and 3,4- methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy")." Biol Psychiatry **50**(2): 137-143.
- Tenn, C. C., P. J. Fletcher and S. Kapur (2003). "Amphetamine-sensitized animals show a sensorimotor gating and neurochemical abnormality similar to that of schizophrenia." Schizophr Res **64**(2-3): 103-114.
- Tseng, K. Y., R. A. Chambers and B. K. Lipska (2009). "The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia." Behav Brain Res **204**(2): 295-305.
- Tsuang, M. (2000). "Schizophrenia: genes and environment." Biol Psychiatry **47**(3): 210-220.
- Tunbridge, E. M., P. J. Harrison and D. R. Weinberger (2006). "Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond." Biol Psychiatry **60**(2): 141-151.

- Valjent, E. and R. Maldonado (2000). "A behavioural model to reveal place preference to delta 9-tetrahydrocannabinol in mice." Psychopharmacology (Berl) **147**(4): 436-438.
- van Rossum, J. M. (1966). "The significance of dopamine-receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs." Arch Int Pharmacodyn Ther **160**(2): 492-494.
- Veling, W., E. Susser, J. van Os, J. P. Mackenbach, J. P. Selten and H. W. Hoek (2008). "Ethnic density of neighborhoods and incidence of psychotic disorders among immigrants." Am J Psychiatry **165**(1): 66-73.
- Venance, L., R. Maldonado and O. Manzoni (2004). "[Endocannabinoids in the central nervous system]." Med Sci (Paris) **20**(1): 45-53.
- Vezina, P., G. Blanc, J. Glowinski and J. P. Tassin (1991). "Opposed Behavioural Outputs of Increased Dopamine Transmission in Prefrontocortical and Subcortical Areas: A Role for the Cortical D-1 Dopamine Receptor." Eur J Neurosci **3**(10): 1001-1007.
- Vigano, D., C. Guidali, S. Petrosino, N. Realini, T. Rubino, V. Di Marzo and D. Parolaro (2009). "Involvement of the endocannabinoid system in phencyclidine-induced cognitive deficits modelling schizophrenia." Int J Neuropsychopharmacol **12**(5): 599-614.
- Vinklerova, J., J. Novakova and A. Sulcova (2002). "Inhibition of methamphetamine self-administration in rats by cannabinoid receptor antagonist AM 251." J Psychopharmacol **16**(2): 139-143.
- Viveros, M. P., E. M. Marco and S. E. File (2005). "Endocannabinoid system and stress and anxiety responses." Pharmacol Biochem Behav **81**(2): 331-342.
- Vlachou, S., G. G. Nomikos and G. Panagis (2003). "WIN 55,212-2 decreases the reinforcing actions of cocaine through CB1 cannabinoid receptor stimulation." Behav Brain Res **141**(2): 215-222.

Vlachou, S., G. G. Nomikos and G. Panagis (2005). "CB1 cannabinoid receptor agonists increase intracranial self-stimulation thresholds in the rat." Psychopharmacology (Berl) **179**(2): 498-508.

Vlachou, S., G. G. Nomikos, D. N. Stephens and G. Panagis (2007). "Lack of evidence for appetitive effects of Delta 9-tetrahydrocannabinol in the intracranial self-stimulation and conditioned place preference procedures in rodents." Behav Pharmacol **18**(4): 311-319.

Vlachou, S. and G. Panagis (2013). "Regulation of Brain Reward by the Endocannabinoid System: A critical Review of Behavioral Studies in Animals." Curr Pharm Des.

Vollenweider, F. X., M. F. Vollenweider-Scherpenhuyzen, A. Babler, H. Vogel and D. Hell (1998). "Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action." Neuroreport **9**(17): 3897-3902.

Voruganti, L. N., P. Slomka, P. Zabel, A. Mattar and A. G. Awad (2001). "Cannabis induced dopamine release: an in-vivo SPECT study." Psychiatry Res **107**(3): 173-177.

Waddington, J. L., A. Lane, C. Larkin and E. O'Callaghan (1999). "The neurodevelopmental basis of schizophrenia: clinical clues from cerebro-craniofacial dysmorphogenesis, and the roots of a lifetime trajectory of disease." Biol Psychiatry **46**(1): 31-39.

Wan, R. Q. and R. Corbett (1997). "Enhancement of postsynaptic sensitivity to dopaminergic agonists induced by neonatal hippocampal lesions." Neuropsychopharmacology **16**(4): 259-268.

Wan, R. Q., A. Giovanni, S. H. Kafka and R. Corbett (1996). "Neonatal hippocampal lesions induced hyperresponsiveness to amphetamine: behavioral and in vivo microdialysis studies." Behav Brain Res **78**(2): 211-223.

- Weinberger, D. R. (1987). "Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia." Arch Gen Psychiatry **44**(7): 660-669.
- Weinberger, D. R. and B. K. Lipska (1995). "Cortical maldevelopment, anti-psychotic drugs, and schizophrenia: a search for common ground." Schizophr Res **16**(2): 87-110.
- Wenger, T., G. Moldrich and S. Furst (2003). "Neuromorphological background of cannabis addiction." Brain Res Bull **61**(2): 125-128.
- Whitlow, C. T., C. S. Freedland and L. J. Porrino (2002). "Metabolic mapping of the time-dependent effects of delta 9-tetrahydrocannabinol administration in the rat." Psychopharmacology (Berl) **161**(2): 129-136.
- Wilson, M. (1993). "DSM-III and the transformation of American psychiatry: a history." Am J Psychiatry **150**(3): 399-410.
- Wise, R. A. (2004). "Dopamine, learning and motivation." Nat Rev Neurosci **5**(6): 483-494.
- Wise, R. A. and M. A. Bozarth (1987). "A psychomotor stimulant theory of addiction." Psychol Rev **94**(4): 469-492.
- Wise, R. A. and P. P. Rompre (1989). "Brain dopamine and reward." Annu Rev Psychol **40**: 191-225.
- Woolley, D. W. and E. Shaw (1954). "Some neurophysiological aspects of serotonin." Br Med J **2**(4880): 122-126.
- Xi, Z. X., K. Spiller, A. C. Pak, J. Gilbert, C. Dillon, X. Li, X. Q. Peng and E. L. Gardner (2008). "Cannabinoid CB1 receptor antagonists attenuate cocaine's rewarding effects: experiments with self-administration and brain-stimulation reward in rats." Neuropsychopharmacology **33**(7): 1735-1745.

- Yamamoto, K. and O. Hornykiewicz (2004). "Proposal for a noradrenaline hypothesis of schizophrenia." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **28**(5): 913-922.
- Yaryura-Tobias, J. A., B. Diamond and S. Merlis (1970). "The action of L-dopa on schizophrenic patients (a preliminary report)." Curr Ther Res Clin Exp **12**(8): 528-531.
- Yeomans, J. S., N. T. Maidment and B. S. Bunney (1988). "Excitability properties of medial forebrain bundle axons of A9 and A10 dopamine cells." Brain Res **450**(1-2): 86-93.
- Ypsilantis, P., M. Politou, C. Anagnostopoulos, A. Kortsaris and C. Simopoulos (2012). "A rat model of cigarette smoke abuse liability." Comp Med **62**(5): 395-399.
- Zammit, S., T. H. Moore, A. Lingford-Hughes, T. R. Barnes, P. B. Jones, M. Burke and G. Lewis (2008). "Effects of cannabis use on outcomes of psychotic disorders: systematic review." Br J Psychiatry **193**(5): 357-363.
- Zangen, A., M. Solinas, S. Ikemoto, S. R. Goldberg and R. A. Wise (2006). "Two brain sites for cannabinoid reward." J Neurosci **26**(18): 4901-4907.
- Zavitsanou, K., T. Garrick and X. F. Huang (2004). "Selective antagonist [3H]SR141716A binding to cannabinoid CB1 receptors is increased in the anterior cingulate cortex in schizophrenia." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **28**(2): 355-360.
- Zuardi, A. W., J. A. Crippa, J. E. Hallak, S. Bhattacharyya, Z. Atakan, R. Martin-Santos, P. K. McGuire and F. S. Guimaraes (2012). "A critical review of the antipsychotic effects of cannabidiol: 30 years of a translational investigation." Curr Pharm Des **18**(32): 5131-5140.
- Zuckerman, L., M. Rehavi, R. Nachman and I. Weiner (2003). "Immune activation during pregnancy in rats leads to a postpubertal emergence of disrupted latent inhibition, dopaminergic hyperfunction, and altered limbic morphology in the offspring: a novel neurodevelopmental model of schizophrenia." Neuropsychopharmacology **28**(10): 1778-1789.

Zuckerman, L. and I. Weiner (2005). "Maternal immune activation leads to behavioral and pharmacological changes in the adult offspring." J Psychiatr Res **39**(3): 311-323.